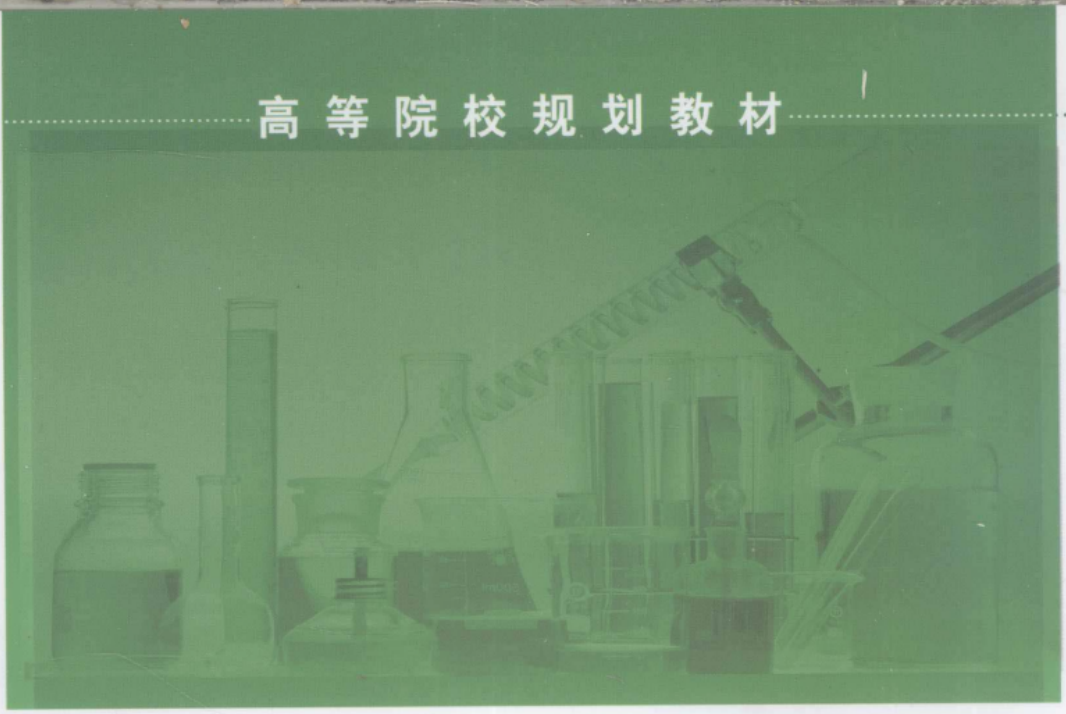
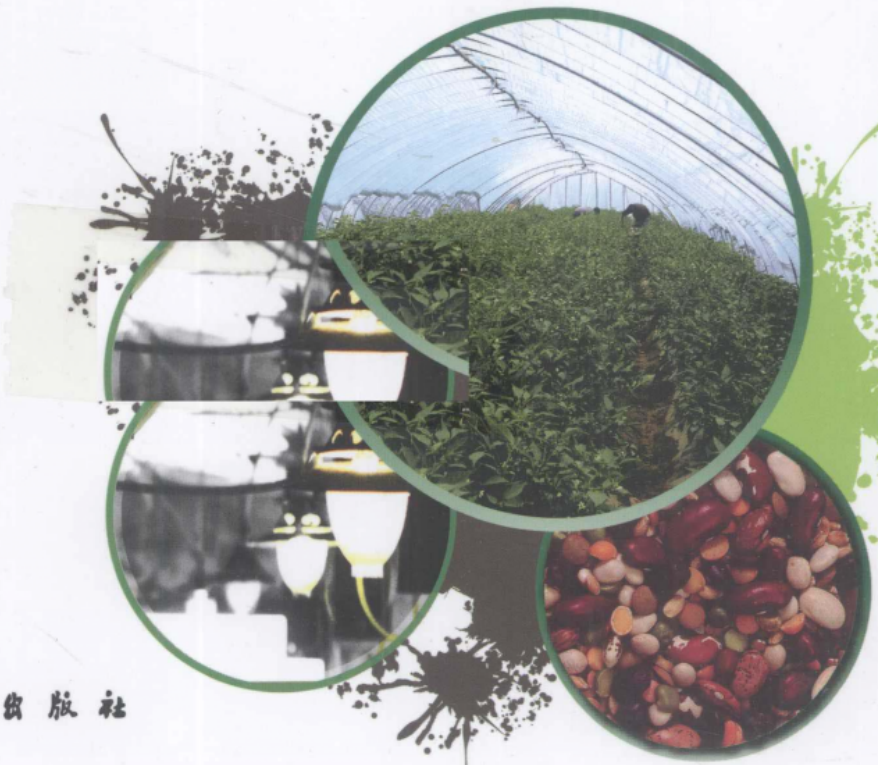
高等院校规划教材



食品科学与工程专业实验指导

刘静波　主编

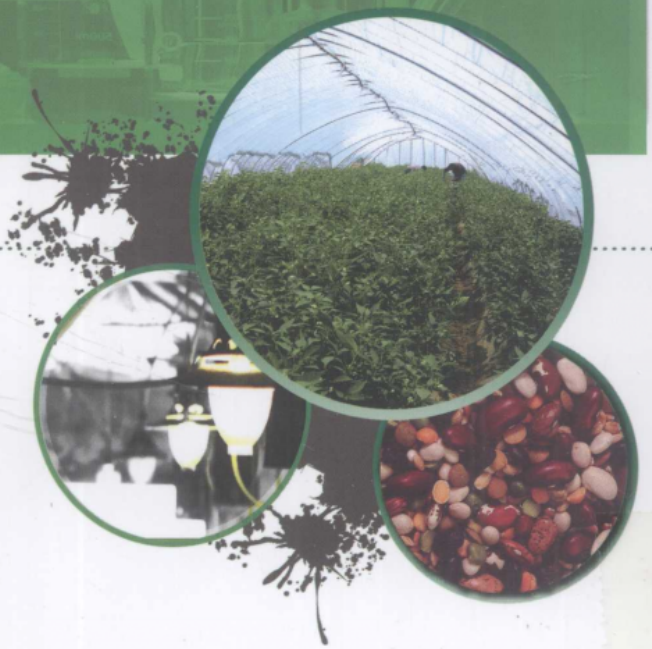


化学工业出版社

化学工业出版社 教学资源网
www.cipedu.com.cn
专业教学服务支持平台

食品科学与工程专业实验指导





ISBN 978-7-122-06696-1

销售分类建议：食品

定价：29.00 元

高等院校规划教材

食品科学与工程专业实验指导

刘静波　主编

化学工业出版社

·北京·

图书在版编目（CIP）数据

食品科学与工程专业实验指导/刘静波主编. —北京：化学工业出版社，2009.10

高等院校规划教材

ISBN 978-7-122-06696-1

Ⅰ.食… Ⅱ.刘… Ⅲ.①食品工业-基础科学-高等学校-教学参考资料②食品工程学-高等学校-教学参考资料 Ⅳ.TS201

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2009）第 170189 号

责任编辑：赵玉清　　文字编辑：张春娥

责任校对：洪雅姝　　装帧设计：杨　北

出版发行：化学工业出版社（北京市东城区青年湖南街 13 号　邮政编码 100011）

印　　刷：北京云浩印刷有限责任公司

装　　订：三河市宇新装订厂

787mm×1092mm　1/16　印张 15¾　字数 430 千字　　2010 年 9 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询：010-64518888（传真：010-64519686）　售后服务：010-64518899

网　　址：http://www.cip.com.cn

凡购买本书，如有缺损质量问题，本社销售中心负责调换。

定　　价：29.00 元

版权所有　违者必究

主　编： 刘静波

副主编： 林松毅　张铁华　卢　静　庄　红

编　者：（按汉语拼音排序）

卜秀娟　高　峰　宫新统　李文亮　李岩松　林松毅　刘静波

卢　静　马成林　马中威　潘风光　庞　勇　孙春燕　唐明祥

王二雷　王海波　王　军　王作昭　武　军　奚春宇　邢贺钦

徐克成　闫海洋　叶海青　于亚莉　袁　媛　张大力　张鸣镝

张铁华　张　燕　肇　萍　庄　红

主　审： 殷涌光

前　言

《食品科学与工程专业实验指导书》是以2006～2010年教育部高等学校轻工与食品学科教学指导委员会食品科学与工程专业教学指导分委员会所开展的食品科学与工程专业建设规范和课程建设规范等研究成果为切入点，着眼于21世纪食品科学与工程专业人才培养规格及工程教育认证的适用性需求，由多年来一直从事食品科学与工程专业的教学与科研的专家与学者集体编撰而成。

本教材共分十六章，涵盖了食品科学与工程专业的11门实验课程（食品生物化学、食品化学、物理化学、食品工程原理、食品分析、食品营养学、食品微生物学、食品安全学、食品毒理学、食品工艺学、食品机械与设备）、3门课程设计（食品工程原理、食品工厂设计与环境保护、食品工艺设计）、2门实践课程（食品科学与工程专业认识实习、食品工艺学实践）的实验/设计/实践的教学内容，能够满足学生开展相应的实验操作和技能培训等需求。

本教材包含了食品科学与工程专业的实验、实践、实习、设计4种类型的教学内容，从基础到专业、从实验到实践、从验证性到设计性，使用周期可贯穿于入学至毕业四年的大学生涯，更方便于学生掌握相应技能的系统性和连贯性，满足“综合型和技能型”人才培养的教学需要。

本教材不仅适用于食品科学与工程、食品质量与安全等相关专业的本科生教学，同样适用于食品科学与工程、农产品加工与贮藏等相关专业硕士/博士研究生从事课题研究所需实验技能培训需要，也可作为食品科学工作者及企业生产实验技术人员的实用参考书目。

本教材的编写出版得到了2006～2010年教育部高等学校轻工与食品学科教学指导委员会食品科学与工程专业教学指导分委员会和化学工业出版社的大力支持和帮助，也得到了吉林大学等高校同仁们的关心和鼓励，再次向给予本书支持和帮助的所有人员表示衷心感谢！

由于编者知识水平有限，教材中难免会出现不妥和疏漏之处，衷心期待专家、学者的指正。

刘静波
吉林大学
2010年4月8日

目　录

第一章　食品生物化学实验指导 …… 1
实验一　植物组织中总糖和还原糖含量的测定（蒽酮比色法） …… 1
实验二　蛋黄卵磷脂的提取和鉴定实验 …… 3
实验三　脂肪碘价的测定（Hanus 法） …… 4
实验四　动植物油脂游离脂肪酸及酸价的测定 …… 6
实验五　蛋白质浓度的测定（考马斯亮蓝结合法） …… 8
实验六　氨基酸分离实验（离子交换柱色谱法） …… 9
实验七　蛋白质相对分子质量的测定（SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法） …… 11
实验八　谷物种子蛋白质中赖氨酸含量的测定 …… 15
实验九　苯丙氨酸解氨酶的纯化与活性测定 …… 17
第二章　食品化学实验指导 …… 23
实验一　食品水分活度的测定 …… 23
实验二　碳水化合物的定性反应实验 …… 24
实验三　淀粉的糊化和凝胶化实验 …… 26
实验四　橘皮中果胶提取与含量测定 …… 29
实验五　蛋白质的定性反应实验 …… 31
实验六　胶体系统实验 …… 32
实验七　影响卵蛋白变性凝结的因素实验 …… 34
实验八　油脂的定性反应实验 …… 36
实验九　影响酶促反应的因素实验 …… 37
实验十　植物色素提取与性质实验 …… 39
实验十一　美拉德反应初始阶段的测定 …… 40
实验十二　溶液的味觉实验 …… 41
第三章　物理化学实验指导 …… 44
实验一　高聚物的相对分子质量测定（黏度法） …… 44
实验二　萘在硫酸铵水溶液中的活度系数测定（紫外分光光度法） …… 46
实验三　蔗糖转化反应的速率常数测定（旋光法） …… 48
第四章　食品工程原理实验指导 …… 51
实验一　恒压过滤常数测定实验 …… 51
实验二　空气-蒸汽对流给热系数的测定 …… 55
实验三　离心泵特性曲线测定 …… 60
实验四　流体流动阻力的测定 …… 63
实验五　流化床干燥实验 …… 67
实验六　筛板塔精馏过程实验 …… 71
实验七　填料塔精馏过程实验 …… 75
实验八　液-液转盘萃取实验 …… 78
第五章　食品分析实验指导 …… 82

实验一　食品的物理检验实验 …… 82
实验二　食品中水分含量的测定 …… 86
实验三　食品总灰分的测定 …… 89
实验四　食品总酸度及有效酸度的测定 …… 90
实验五　蛋白质测定（微量凯氏法） …… 92
实验六　食品中还原糖含量的测定（直接滴定法） …… 94
实验七　食品中粗纤维的测定 …… 96
实验八　脂肪的测定（索氏提取法） …… 97
实验九　食品中维生素 B_1 含量的测定（荧光分光光度法） …… 99
实验十　抗坏血酸含量测定（2,6-二氯酚靛酚法） …… 101
实验十一　饮料中胭脂红色素的测定（高效液相色谱法） …… 103
实验十二　食品中亚硝酸盐含量测定（盐酸萘乙二胺比色法） …… 105
实验十三　有机磷农药残留量的测定（气相色谱法） …… 106
实验十四　食品中砷含量的测定（银盐比色法） …… 108
实验十五　食品中铜、锌含量测定（原子吸收光谱法） …… 111
实验十六　食用植物油综合检验实验 …… 112
第六章　食品营养学实验指导 …… 119
实验一　营养平衡调查实验 …… 119
实验二　营养食谱的设计实验 …… 124
实验三　食物样品中营养成分综合分析实验 …… 126
第七章　食品微生物学实验指导 …… 130
实验一　显微镜油镜的使用实验 …… 130
实验二　细菌的简单染色与革兰染色实验 …… 131
实验三　细菌的芽孢染色实验 …… 133
实验四　微生物细胞大小的测定 …… 135
实验五　微生物的显微直接计数法 …… 137
实验六　培养基的配制与灭菌实验 …… 138
实验七　微生物的分离、纯化实验 …… 140
实验八　微生物的接种技术实验 …… 142
实验九　细菌的生理生化实验 …… 144
实验十　食品中细菌总数的测定 …… 147
实验十一　乳酸菌在发酵饮品中的应用实验 …… 148
实验十二　微生物菌种保藏实验 …… 151
第八章　食品安全学实验指导 …… 155
实验一　食品中大肠菌群的测定 …… 155
实验二　蒸馏酒和发酵酒的卫生检验实验 …… 160
实验三　鱼类、蛋类的卫生检验 …… 165
实验四　罐藏制品的常规检验实验 …… 172
实验五　鲜乳的综合检验 …… 175
实验六　PCR 技术在食品安全检测中的应用实验 …… 179
第九章　食品毒理学实验指导 …… 182
实验一　实验动物的一般操作技术 …… 182
实验二　经口急性毒性实验 …… 187

实验三　小鼠精子畸形实验…… 189
实验四　小鼠骨髓细胞染色体畸变实验…… 191
实验五　小鼠骨髓细胞微核实验…… 192
实验六　鼠伤寒沙门菌回复突变实验…… 194
第十章　食品工艺学实验指导…… 198
实验一　碳酸饮料的制作…… 198
实验二　甜橙汁饮料的制作…… 199
实验三　夹馅面包的制作…… 201
实验四　酥性饼干的制作…… 202
实验五　香肠的制作…… 203
实验六　传统西式火腿的制作…… 204
实验七　蔬菜肉脯的制作…… 206
实验八　酸奶的制作…… 208
实验九　发酵乳饮料的制作…… 209
实验十　冰激凌的制作…… 211
实验十一　干酪的制作…… 212
第十一章　食品机械与设备实验指导…… 215
实验一　清洗、分级机械与设备…… 215
实验二　物料混合机械…… 217
实验三　包装机械…… 219
实验四　焙烤机械…… 223
第十二章　食品工程原理课程设计指导…… 225
第十三章　食品工厂设计与环境保护课程设计指导…… 231
第十四章　食品科学与工程专业认识实习指导…… 233
第十五章　食品工艺实践指导…… 235
第十六章　食品工艺设计指导…… 241
参考文献…… 244

第一章　食品生物化学实验指导

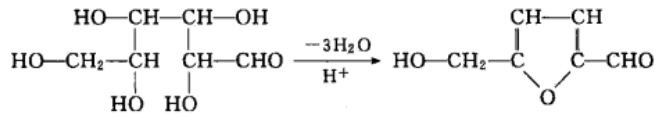
实验一　植物组织中总糖和还原糖含量的测定（蒽酮比色法）

一、实验目的

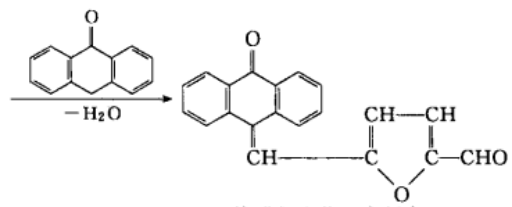
掌握蒽酮比色法测定总糖和还原糖含量的原理和方法；学会正确使用分光光度计。

二、实验原理

游离的己糖或多糖中的己糖基、戊糠醛及己糖醛酸在浓硫酸的作用下脱水生成糠醛衍生物，糠醛衍生物与蒽酮缩合成蓝色的化合物，在620nm处有最大吸收峰，在一定糖浓度范围内（200μg/mL），溶液吸光度值与糖溶液浓度呈线性关系。用酸将植物组织中没有还原性的多糖和寡糖彻底水解成具有还原性的单糖，或直接提取植物组织中的还原糖，即可对植物组织中的总糖和还原糖进行定量测定。



己糖　　糠醛



（糠醛衍生物，亮绿色，620nm处有最大吸收）

三、实验材料与仪器

1. 仪器

可见分光光度计，电子天平（1/100），粉碎机，水浴锅，电炉。

2. 材料

研钵，量筒，三角烧瓶，烧杯，容量瓶，玻璃漏斗，试管（1.5cm×15cm），刻度吸管，胶头滴管，pH试纸，坐标纸。植物原料，如银耳、木耳、菜叶等。

3. 试剂

① 蒽酮试剂　取2g蒽酮溶于1000mL体积分数为80%的硫酸中，当日配制使用。

② 0.1mg/mL标准葡萄糖溶液　称取100mg葡萄糖，溶于蒸馏水并稀释至1000mL（可滴加几滴甲苯作防腐剂）。

③ 6mol/L HCl溶液　50mL盐酸，加水至100mL。

④ 10%NaOH溶液　称取10g NaOH固体，溶于蒸馏水并稀释至100mL。

四、实验步骤

1. 葡萄糖标准曲线的绘制

取干净试管 6 支，按表 1-1 进行操作。以 1# 管为空白，在 620nm 波长下比色，记录各自的吸光度值（A_{620nm}）。以吸光度值（A_{620nm}）为纵坐标，以葡萄糖溶液浓度 0、0.02mg/mL、0.04mg/mL、0.06mg/mL、0.08mg/mL、0.10mg/mL 为横坐标，绘制标准曲线。

表 1-1　标准曲线的制作及样品测定参考表

步骤 \ 管号	1#（空白）	2#	3#	4#	5#	6#	7#（样品）	8#（样品）
标准葡萄糖溶液/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	还原糖	总糖
蒸馏水/mL	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0		
样品液/mL	—	—	—	—	—	—	1.0	1.0
糖溶液浓度/(mg/mL)	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	待测	待测
置冰水浴中冷却								
蒽酮试剂/mL	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
沸水浴中准确加热 10min，取出，用自来水冷却，室温放置 10min								
A_{620nm}								

2. 样品中还原糖的提取和测定

（1）还原糖提取　称取植物原料干粉 0.1～0.5g，加水约 3mL，在研钵中磨成匀浆，转入三角烧瓶中，并用约 30mL 的蒸馏水冲洗研钵 2～3 次，洗出液也转入三角烧瓶中。于 50℃水浴中保温半小时（使还原糖浸出），取出，冷却后定容至 100mL。过滤，取 1mL 滤液进行还原糖测定。

（2）还原糖含量测定　吸取 1mL 总糖类溶液置试管中，浸于冰浴中冷却，再加入 4mL 蒽酮试剂，沸水浴中准确加热 10min，取出用自来水冷却后比色。其他条件与做标准曲线相同，测得的吸光度值 A_{620nm} 由标准曲线查算出样品液的糖含量（样品液显色后若颜色很深，其吸光度超过标准曲线浓度范围，则应将样品提取液适当稀释后再加蒽酮显色测定）。

3. 样品中总糖的提取、水解和测定

称取植物原料干粉 0.1～0.5g，加水约 3mL，在研钵中磨成匀浆，转入三角烧瓶中，并用约 12mL 的蒸馏水冲洗研钵 2～3 次，洗出液也转入三角烧瓶中。再向三角烧瓶中加入 6mol/L 盐酸 10mL，搅拌均匀后在沸水浴中水解半小时，冷却后用 10%NaOH 溶液中和至 pH 呈中性。然后用蒸馏水定容至 100mL，过滤，取滤液 10mL，用蒸馏水定容至 100mL，成稀释 1000 倍的总糖水解液。取 1mL 总糖水解液，测定其中还原糖含量：吸取 1mL 总糖类溶液置试管中，浸于冰浴中冷却，再加入 4mL 蒽酮试剂，沸水浴中准确加热 10min，取出用自来水冷却后比色，其他条件与做标准曲线相同，测得的吸光度值由标准曲线查算出样品液的糖含量。

五、实验结果

1. 标准曲线的示意图

绘制葡萄糖标准曲线，要求获知标准曲线回归方程与其相关系数 R^2 值。

2. 样品中还原糖含量和总糖含量计算

按照公式(1-1) 和公式 (1-2) 分别计算植物原料干粉中还原糖和总糖的质量分数（ω）。

$$\omega(\text{还原糖})=(c_1V_1/m)\times 100\% \tag{1-1}$$

$$\omega(\text{总糖})=(c_2V_2/m)\times 0.9\times 100\% \tag{1-2}$$

式中，ω(还原糖) 表示还原糖的质量分数，%；ω(总糖) 表示总糖的质量分数，%；c_1 表示还原糖浓度，mg/mL；c_2 表示水解后还原糖浓度，mg/mL；V_1 表示样品中还原糖提取液体积，mL；V_2 表示样品中总糖提取液体积，mL；m 表示样品质量，mg。

六、注意事项

1. 食品中的总糖通常是指具有还原性的糖（葡萄糖、果糖、乳糖、麦芽糖等）和在测定条件下能水解为还原性单糖的糖的总量。

2. 本法适用于可溶性还原糖测定。测定结果是还原性糖和能水解为还原性糖的总和。

3. 如要求结果中不含淀粉，则样品处理不应用高浓度酸，而应改用80%乙醇。

4. 如提取液中有较多的可溶性蛋白，必须先除去蛋白。

5. 若样品溶液颜色较深，可用活性炭脱色。

6. 对于总糖含量的计算公式(1-2)，在测定干扰杂质很少、还原糖含量相对总糖含量很少时适用，乘以0.9是为了从测定出的总糖水解成的单糖量中，扣除水解时所消耗的水量。

七、思考题

1. 样品中总糖的提取和水解过程中应注意什么？

2. 反应后试管底有时会出现不溶性胶状物，试分析其可能产生的原因？

实验二　蛋黄卵磷脂的提取和鉴定实验

一、实验目的

熟悉乙醇法提取蛋黄卵磷脂；掌握蛋黄卵磷脂性质鉴定的原理和方法。

二、实验原理

磷脂是生物体组织细胞的重要成分，主要存在于大豆等植物组织以及动物的肝、脑、脾、心等组织中。卵磷脂在蛋黄中的含量可高达8%～10%，并因之而得名。卵磷脂和脑磷脂均溶于乙醚而不溶于丙酮，利用此性质可将其与中性脂肪分离开；此外，卵磷脂能溶于乙醇而脑磷脂不溶，利用此性质又可将卵磷脂和脑磷脂分离。

新提取的卵磷脂为白色，当与空气接触后，其所含不饱和脂肪酸会被氧化而使卵磷脂呈黄褐色。卵磷脂被碱水解后可分解为脂肪酸盐、甘油、胆碱和磷酸盐，胆碱在碱的进一步作用下生成无色且具有氨和鱼腥气味的三甲胺；甘油与硫酸氢钾共热，可生成具有特殊臭味的丙烯醛；磷酸盐在酸性条件下与钼酸铵作用，生成黄色的磷钼酸沉淀；这样通过对分解产物的检验可以对卵磷脂进行鉴定。

三、实验材料与仪器

1. 仪器

电子天平（1/100），水浴锅，电炉。

2. 材料

烧杯，量筒，蒸发皿，漏斗，试管，刻度吸管。鲜鸡蛋蛋黄或蛋黄粉。

3. 试剂

① 95%乙醇。

② 10%氢氧化钠溶液　10g NaOH溶于蒸馏水，稀释至100mL。

四、实验步骤

1. 蛋黄卵磷脂的提取

于小烧杯内置蛋黄约 5g，加入温热 95%乙醇 20mL，边加边搅拌均匀，提取一定时间后过滤。若滤液不清，需重滤，直至透明为止。将滤液置于蒸发皿内，80℃水浴或 50℃烘箱蒸干，所得干物质即为卵磷脂。

2. 蛋黄卵磷脂的溶解性

取干燥试管，加入少许卵磷脂，再加入 2mL 乙醚，用玻棒搅动使卵磷脂溶解，逐滴加入丙酮，观察实验现象。

3. 蛋黄卵磷脂的乳化性

取两支干燥试管，各加入 5mL 水后，其中一只加入卵磷脂少许，待其溶解后滴加 5 滴花生油。另一只中滴入 5 滴花生油，加塞用力振荡试管，使花生油分散。观察两只试管内的乳化状态。

4. 蛋黄卵磷脂的鉴定

（1）三甲胺的检验　取干燥试管一支，加入少量提取的卵磷脂以及 2～5mL 氢氧化钠溶液，放入水浴中加热 15min，在管口放一片红色石蕊试纸，观察颜色有无变化，并嗅其气味。将加热过的溶液过滤，滤液供下面检验。

（2）不饱和性检验　取干净试管一支，加入 10 滴上述滤液，再加入 1～2 滴 3%溴的四氯化碳溶液，振摇试管，观察有何现象产生。

（3）磷酸的检验　取干净试管一支，加入 10 滴上述滤液和 5～10 滴 95%乙醇溶液，然后再加入 5～10 滴钼酸铵试剂，观察现象；而后再将试管放入热水浴中加热 5～10min，观察有何现象产生。

（4）甘油的检验　取干净试管一支，加入少许卵磷脂和 0.2g 硫酸氢钾，用试管夹夹住并先在小火上略微加热，使卵磷脂和硫酸氢钾混溶，然后再集中加热，待有水蒸气放出时，嗅有何气味产生。

五、注意事项

1. 易燃试剂注意远离明火。
2. 卵磷脂高温下可分解，应控制蒸干的温度。

六、实验结果

1. 绘制蛋黄卵磷脂提取的工艺路线。
2. 对蛋黄卵磷脂溶解性、乳化性及鉴定实验现象逐一描述。

实验三　脂肪碘价的测定（Hanus 法）

一、实验目的

掌握 Hanus 法测定脂肪碘价的原理和方法。

二、实验原理

在适当条件下，不饱和脂肪酸的不饱和键与碘、溴或氯发生加成反应。脂肪分子如含有不饱和脂酰基，即能吸收碘。100g 脂肪所能吸收碘的质量（g）数称为碘价。碘价的高低表示脂肪不饱和度的大小。

由于碘与脂肪的加成作用很慢，故于 Hanus 试剂中加入适量溴，使产生溴化碘，再与脂肪作用。将一定量（过量）的溴化碘（Hanus 试剂）与脂肪作用后，测定溴化碘剩余量，即

可求得脂肪之碘价。Hanus 法的反应如下：

$$I_2 + Br_2 \longrightarrow 2IBr(\text{Hanus 试剂})$$

$$IBr + -CH{=}CH- \longrightarrow -CHI-CHBr-$$

$$KI + CH_3COOH \longrightarrow HI + CH_3COOK$$

$$HI + IBr \longrightarrow HBr + I_2$$

$$I_2 + 2Na_2S_2O_3 \longrightarrow 2NaI + Na_2S_4O_6(\text{滴定})$$

三、实验材料与仪器

1. 仪器

电子天平（1/100）。

2. 材料

碘瓶，量筒，称量瓶，锥形瓶，吸管，滴定管（棕色）25mL，滴定台。蓖麻油或其他油类。

3. 试剂

① Hanus 试剂　溶 13.20g 升华碘于 1000mL 冰醋酸（需高纯度，与硫酸及重铬酸钾共热不呈绿色）内。溶解时可将冰醋酸分几次加入，并置水浴中加热助溶，冷却后，加适当的溴（约 3mL）使卤素值增高 1 倍（未加溴时，先取出 1mL 碘液，加数滴 KI 溶液，用 $Na_2S_2O_3$ 溶液滴定，加入溴后，再按同法滴定，所耗硫代硫酸钠溶液之量应为前者的 1 倍）。此溶液贮于棕色瓶中。

② 15%碘化钾溶液　溶 150g 碘化钾于蒸馏水中，稀释至 1000mL。

③ 标准硫代硫酸钠溶液（约 0.05mol/L）　溶 25g 纯硫代硫酸钠晶体（$Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$；C.P. 以上规格）于经煮沸后刚冷的蒸馏水中（硫代硫酸钠溶液极不稳定，尤以酸性时更易分解，在中性或微碱性时较稳定，故加入少量 $Na_2S_2O_3$。所用蒸馏水需煮沸，以赶去水中的 CO_2），稀释至 1L，此溶液中可加少量（约 50mg）Na_2CO_3，数日后标定。

标定方法：准确称取 0.15～0.20g 重铬酸钾 2 份，分别置于两个 500mL 锥形瓶中，各加水约 30mL，溶解后，加入固体碘化钾 2g 及 6mol/L HCl 10mL，混匀，塞好，置暗处 3min，然后加水 200mL，用 $Na_2S_2O_3$ 滴定，当溶液由棕变黄后，加淀粉液 3mL，继续滴定至溶液呈淡绿色为止，计算 $Na_2S_2O_3$ 溶液浓度，滴定的反应是：

$$K_2Cr_2O_7 + 6I^- + 14H^+ \longrightarrow 2K^+ + 2Cr^{3+} + 3I_2 + 7H_2O$$

$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} \longrightarrow 2I^- + S_4O_6^{2-}$$

④ 1%淀粉液　将 1g 可溶性淀粉与少量冷蒸馏水混合成薄浆状物，然后缓缓倾入沸蒸馏水中，边加边搅拌，最后以沸蒸馏水稀释至 100mL。

四、实验步骤

1. 取样

实验取样依其种类和形态不同有差异：固体脂肪称取 0.5g，半干性油称取 0.25g，干性油称取0.1～0.2g。称取油样时，最好用减重法。

2. 样品处理

将样品置于碘瓶中，加 10mL 氯仿作溶剂，待脂肪溶解后，加入 Hanus 试剂 20mL，塞好碘瓶，轻轻摇动，摇动时亦应避免溶液溅至瓶颈部及塞上，混匀后，置暗处（或用黑布包裹碘瓶）30min，于另一碘瓶中置同量试剂，但不加脂肪，做空白试验。

30min 后，用移液管先注少量 15%碘化钾溶液于碘瓶口边上，将瓶塞稍稍打开，使碘化钾溶液流入瓶内，并继续由瓶口边缘加入碘化钾溶液，共加 20mL，再加水 100mL，混匀。

3. 滴定

用标准硫代硫酸钠溶液进行滴定。开始加硫代硫酸钠溶液时可较快。待瓶内液体呈淡黄色

时，加1%淀粉液数滴，继续滴定，滴定将近终点时（蓝色已极淡），可加塞振荡，使与溶于氯仿中之碘完全作用，继续滴定至蓝色刚好消失为止，记录所用硫代硫酸钠溶液的量，用同法滴定空白管。

五、实验结果

碘价计算，按公式(1-3) 计算样品的碘价。

$$碘价=c\times(B-S)\times10^{-3}\times126.9\times100/m \tag{1-3}$$

式中，B 表示滴定空白所耗 $Na_2S_2O_3$ 溶液体积，mL；S 表示滴定样品所耗 $Na_2S_2O_3$ 溶液体积，mL；126.9 表示碘（I）的相对原子质量；m 表示脂肪质量，g；c 表示 $Na_2S_2O_3$ 溶液物质的量浓度，mol/L。

六、注意事项

Hanus 试剂有刺激性，不能用吸管吸取，可将试剂盛于棕色滴定管内，放取之，注意勿使碘液沾在瓶颈部。

七、思考题

结合表 1-2 中所列自然界普通脂类的碘价及皂化价，将实验结果与之对比，分析误差及其产生原因。

表 1-2　自然界普通脂类的碘价及皂化价

脂　类	碘　价	皂 化 价
奶油	22～38	220～241
猪油	54～70	193～203
羊油	32～50	192～195
椰子油	8～10	246～265
亚麻仁油	170～209	190～196
橄榄油	74～95	190～195
花生油	83～105	189～199
豆油	115～145	190～197
棉籽油	104～114	191～195
菜籽油	97～105	170～179
麻油	103～112	188～193

实验四　动植物油脂游离脂肪酸及酸价的测定

一、实验目的

掌握动植物油脂游离脂肪酸及酸价测定的原理和方法；练习滴定分析的基本操作。

二、实验原理

新鲜油脂随着贮藏期的延长，在酶、细菌、霉菌、环境等条件的影响下，会被水解而产生一定量的游离脂肪酸。不饱和脂肪酸在空气中被氧化成醛或酮，从而使油脂的品质变劣，甚至会产生臭味，即被称之为酸败现象。酸败的程度用酸价来表示，即为中和 1g 油脂中游离脂肪酸所需 KOH 的质量（mg）。

油脂中的游离脂肪酸与 KOH 发生中和反应，反应式如下所示。依据 KOH 标准溶液消耗量即可计算出游离脂肪酸的量。

$$RCOOH+KOH\longrightarrow RCOOK+H_2O$$

三、实验材料与仪器

1. 仪器

电子分析天平（1/1000），水浴锅。

2. 材料

碱式滴定管，三角烧瓶，量筒，油脂（猪油、豆油等均可）。

3. 试剂

（1）0.100mol/L KOH 标准溶液

① 用水配制　称取 5.61g 氢氧化钾，置于聚乙烯容器中，加水稀释至 1000mL。

② 按 GB/T 601—2002 配制　称取 8g 氢氧化钾，置于聚乙烯容器中，加约 5mL 水溶解，用 95%乙醇稀释至 1000mL，密闭放置 24h。用塑料管虹吸上层清液至另一聚乙烯容器中。

称取 0.75g 于 105～110℃电烘箱中干燥至恒重的工作基准试剂邻苯二甲酸氢钾，溶于 50mL 无二氧化碳水中，加 2 滴酚酞指示液（10g/L），用配制好的氢氧化钾-乙醇标准溶液滴定至溶液呈粉红色，同时做空白试验。临用前标定。

氢氧化钾-乙醇标准滴定溶液的浓度［c(KOH)，数值以 mol/L 表示］，按公式计算如下：

$$c(\mathrm{KOH})=m\times1000/[(V_1-V_2)\times M]$$

式中，m 表示邻苯二甲酸氢钾质量，g；V_1 表示滴定消耗氢氧化钾-乙醇溶液的体积，mL；V_2 表示空白试验滴定消耗氢氧化钾-乙醇溶液的体积，mL；M 表示邻苯二甲酸氢钾摩尔质量，g/mol，［$M(KHC_6H_4O_4)=204.22$］。

（2）1%酚酞指示剂　称取 1g 酚酞，溶于 95%乙醇稀释至 100mL。

（3）中性醇醚混合液　取 95%乙醇和乙醚按 1∶1 等体积混合，配制而成中性醇醚混合液。临用前加入酚酞指示剂数滴，用 0.100mol/L KOH 溶液中和至淡红色，30s 不褪色方可。

四、实验步骤

准确称取油脂 1.000～2.000g 于 100mL 三角烧瓶中，加入中性醇醚混合液 50mL，振摇溶解或 40℃水浴中溶化至透明（若为固体脂肪需水浴熔化，再加入中性醇醚混合液），用 0.100mol/L KOH 标准溶液滴定至淡红色，30s 不褪色为终点，记录 KOH 溶液所耗用体积（V）。

五、实验结果

1. 脂肪酸价计算

按照公式(1-4) 计算脂肪酸价。

$$\text{脂肪酸价}=(V\times c\times 56.1)/m \tag{1-4}$$

式中，c 表示标准 KOH 溶液浓度，mol/L；V 表示样品消耗 KOH 溶液的体积，mL；56.1 表示 KOH 的摩尔质量，g/mol；m 表示样品质量，g。

2. 游离脂肪酸计算

按照公式(1-5) 计算。

$$\text{游离脂肪酸}(\%)=[(V\times c\times 282)\times 10^{-3}/m]\times 100\% \tag{1-5}$$

式中，c 表示标准 KOH 溶液浓度，mol/L；V 表示样品消耗 KOH 的体积，mL；282 表示油酸的摩尔质量（如用其他酸表示可用相应数值），g/mol；m 表示样品质量，g。

六、注意事项

1. KOH 标准溶液的配制方法可根据实验要求选择。

2. 若油脂本身颜色较深，影响终点判定时，可减少加样量或增加中性醇醚混合液的用量，

也可改用百里酚酞，终点判定为无色至蓝色。

3. 若滴定所用 KOH 量很小时，可用微量滴定管。

4. 若欲测定蓖麻油游离脂肪酸，改用相同体积的中性乙醇替代中性醇醚混合液。

5. 游离脂肪酸含量若用其他酸表示时，取其相应的摩尔质量进行计算。

实验五　蛋白质浓度的测定（考马斯亮蓝结合法）

一、实验目的

掌握考马斯亮蓝结合法测定蛋白质浓度的原理和方法；掌握离心机和移液器的正确使用方法。

二、实验原理

考马斯亮蓝 G-250 是一种甲基取代的三苯基甲烷，在 465nm 处有最大吸收峰。考马斯亮蓝 G-250 能与蛋白质通过范德华力相互作用形成蛋白质-考马斯亮蓝复合物蓝色溶液，引起该染料的最大吸收 λ_{max} 的位置发生转移，在 595nm 处有最大吸收峰。在一定范围内（蛋白质浓度范围为 0～1000μg/mL），蛋白质-考马斯亮蓝复合物溶液颜色的深浅与蛋白质的浓度成正比。

三、实验材料与仪器

1. 仪器

电子天平（1/100），可见分光光度计，低速离心机，移液器。

2. 材料

容量瓶，量筒，具塞试管，刻度吸管。豆芽。

3. 试剂

（1）100μg/mL 牛血清白蛋白标准溶液　准确称取 100mg 牛血清白蛋白，用蒸馏水溶解并定容至 1000mL，制成 100μg/mL 的原液。

（2）考马斯亮蓝 G-250 试剂　准确称取 100mg 考马斯亮蓝 G-250，溶解于 50mL 90%～95%乙醇中，再加入 85%磷酸 100mL，用蒸馏水定容至 1000mL 备用。本试剂常温下可放置 1 个月。

四、实验步骤

1. 牛血清白蛋白标准曲线的绘制

取 7 支 10mL 具塞试管，按表 1-3 进行操作。以 1# 管为空白，在 595nm 波长处比色，记录各自的吸光度值（A_{595nm}）。以吸光度值（A_{595nm}）为纵坐标，各以牛血清白蛋白标准液浓度（μg/mL）为横坐标，绘制标准曲线。要求获得标准曲线回归方程与其相关系数 R^2 值。

表 1-3　标准曲线的制备（0～100μg/mL）及样品测定参考表

试剂 \ 管号	1#（空白）	2#	3#	4#	5#	6#	7#
标准蛋白液/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	—
0.9%NaCl/mL	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0	—
样品提取液/mL	—	—	—	—	—	—	1.0
考马斯亮蓝试剂/mL	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
蛋白质浓度/(μg/mL)	0	20	40	60	80	100	待测
充分混匀，室温静置 3min							
A_{595nm}							

2. 样品中蛋白质含量的测定

准确称取 1～2g 豆芽下胚轴，放入研钵中，加入 2mL 蒸馏水在冰浴中研磨成匀浆，转入离心管中，再用 6mL 蒸馏水分次洗涤研钵，洗涤液收集于同一离心管内，放置 0.5～1h 充分提取。经 3000r/min 离心 10～20min 后，将上清液倒入 10mL 容量瓶中，并以蒸馏水定容至刻度，即得待测样品提取液。

取一支 10mL 具塞试管，加入 0.2mL 样品提取液和 0.8mL 蒸馏水、5.0mL 考马斯亮蓝 G-250试剂，充分混匀，室温静置 3min，再以 1# 管作空白参比，在 595nm 波长下比色，记录吸光度值。

样品可选 2～3 个平行样，测定值取平均值。

五、实验结果

1. 牛血清白蛋白标准曲线的示意图

绘制标准曲线，要求获知回归方程及其相关系数 R^2 值。

2. 样品中蛋白质含量的计算

按公式(1-6) 计算样品中蛋白质含量。

$$\text{蛋白质含量}(\mu g/g\ \text{鲜重}) = \frac{\text{查得蛋白质浓度}(\mu g/mL) \times \text{样品提取液体积}(mL)}{\text{样品鲜重}(g) \times \text{测定时取样体积}(mL)} \quad (1\text{-}6)$$

六、注意事项

1. 样品蛋白质含量应在 10～100μg 为宜。一些阳离子如 K^+、Na^+、Mg^{2+} 以及 $(NH_4)_2SO_4$、乙醇等物质对测定无影响，而大量的去污剂如 TritonX-100、SDS 等会严重干扰测定。

2. 蛋白质与考马斯亮蓝 G-250 结合十分迅速，在 2min 左右即可达到平衡，其结合物在室温下 1h 内保持稳定，且在 5～20min 之间颜色稳定性最好。

3. 试管内溶液要充分混合，但应避免不正确的振荡而产生大量的气泡。

4. 染料易吸附在比色杯上（注意尽量不使用石英比色皿），比色皿用后可用乙醇洗去蓝色。

5. 若所选样品中因精氨酸和芳香族氨基酸的含量而引起考马斯亮蓝染色法测定偏差较大，因此要选用 γ-球蛋白为标准蛋白质，以减少偏差。

七、思考题

1. 绘制标准曲线或样品测定时为什么要将各试管中溶液纵向倒转混合？

2. 有时测吸光度值会出现重复性差的现象，试分析一下可能产生的原因。

实验六　氨基酸分离实验（离子交换柱色谱法）

一、实验目的

掌握色谱装置的正确使用方法，学会装柱、洗脱、收集等离子交换柱色谱技术。了解阳离子交换树脂工作原理。

二、实验原理

树脂（惰性支持物）上结合了阳离子或阴离子后，可与阴离子或阳离子结合。改变溶液的离子强度则这种离子结合又解离，由于不同氨基酸在不同的 pH 值及离子强度溶液中所带电荷各不相同，故对离子交换树脂的亲和力也各不相同。从而可以在洗脱过程中按先后顺序洗出，

以达到分离的目的。

三、实验材料与仪器

1. 仪器

可见分光光度计，色谱柱（1.0cm×12cm），恒流泵，部分收集器，电炉，移液器。

2. 材料

滴定台，试剂瓶，锥形瓶，离心管。氨基酸样品：天冬氨酸（Asp）、赖氨酸（Lys）。

3. 试剂

（1）732 型阳离子交换树脂

（2）洗脱液（柠檬酸缓冲液，0.45mol/L，pH5.3） 称取 28.5g 柠檬酸，用适量的蒸馏水溶解，加入 18.6g NaOH、10.5mL 浓 HCl，混匀，再用蒸馏水定容至 1000mL。

（3）显色剂（0.5%茚三酮） 0.5g 茚三酮溶于 100mL 95%乙醇中。

（4）0.1%$CuSO_4$ 溶液

（5）0.02mol/L HCl 溶液

（6）氨基酸样品 0.01mol/L 天冬氨酸（Asp）和 0.01mol/L 赖氨酸（Lys），用 0.02mol/L HCl 配制。

四、实验步骤

1. 树脂预处理

干树脂经蒸馏水膨胀，倾去细小颗粒，然后用 4 倍体积的 2mol/L HCl 及 2mol/L NaOH 依次浸洗，每次浸 2h，并分别用蒸馏水洗至中性。最后用 1mol/L NaOH 浸半小时转型处理后，用蒸馏水洗至中性，备用。

2. 装柱

垂直装好色谱柱，关闭出口，加入柠檬酸缓冲液约 1cm 高。将处理好的树脂加等体积缓冲液，搅匀，沿管内壁缓慢加入，柱底沉积约 1cm 高时，缓慢打开出口，继续加入树脂直至树脂沉积约 10cm 高。

3. 平衡

将缓冲液瓶与恒流泵相连，恒流泵出口与色谱柱入口相连，树脂表面保留 3～4cm 左右的液层，开动恒流泵，以 0.4mL/min 的流速平衡，直至流出液 pH 与洗脱液 pH 相同（约需 4 倍柱床体积）。

4. 加样

打开色谱柱入口盖子，待柱内液体流至树脂表面 1.0～2.0mm 关闭出口，沿管壁四周小心加入 0.25～0.5mL 样品，慢慢打开出口，当样品液弯月面靠近树脂顶端时，立刻加入 0.5mL 柠檬酸缓冲液冲洗色谱柱入口处。待缓冲液弯月面靠近树脂顶端时，再加入 0.5mL 缓冲液。如此重复两次，然后用滴管小心注入柠檬酸缓冲液（切勿搅动床面），并将色谱柱与洗脱瓶、恒流泵及部分收集器相连，开始用试管收集洗脱液。

5. 洗脱

以柠檬酸缓冲液洗脱，洗脱流速 0.4mL/min，用部分收集器（4mL/管×20 管）收集洗脱液。

6. 测定

依次取各管洗脱液 1mL，各加入显色剂 1mL，混合后沸水浴 10min，冷却，各加 0.1% $CuSO_4$ 溶液 3mL，混匀后，以第 1 管做空白逐一测定 A_{570nm}。以吸光度值 A_{570nm} 为纵坐标，洗脱液累计体积（每管 4mL，故 4mL 为一个单位）为横坐标，绘制洗脱曲线。

五、实验结果

1. 绘制离子交换色谱法分离氨基酸的工艺路线图。

2. 绘制洗脱曲线

要求在 Excel 工作表中，以洗脱液收集管标号 1～20 为横坐标，以各收集管 A_{570nm} 值为纵坐标，绘制洗脱曲线。

六、思考题

根据氨基酸的洗出顺序，分析原因。

七、注意事项

装柱要求连续、均匀，无纹格、无气泡，表面平整，液面不得低于树脂表面，否则需重新装柱。

实验七　蛋白质相对分子质量的测定（SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法）

一、实验目的

了解 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法的原理，掌握垂直板电泳装置的使用方法。

二、实验原理

蛋白质的迁移率在一般的电泳方法中，主要取决于它在某 pH 下所带净电荷量、分子大小（即相对分子质量）以及形状的差异性。如果将电荷差异和形状差异的因素减小到可以忽略不计的程度，则蛋白质在凝胶上的迁移率会完全取决于相对分子质量。

十二烷基硫酸钠（SDS）是一种阴离子去污剂，在一定的条件下能打开蛋白质的氢键和疏水键，并按比例地结合到蛋白质分子上形成带负电荷的蛋白质-SDS 复合物，每克蛋白质一般结合 1.4g SDS。SDS 与蛋白质的定比结合使蛋白质-SDS 复合物均带上相同的负电荷，其量远远超过蛋白质原有的电荷量，因而掩盖了蛋白质间原有的电荷差异。在水溶液中蛋白质-SDS 复合物具有相同的构象，近似雪茄烟形的长椭圆棒（短轴均为 1.8nm，长轴则随蛋白质的相对分子质量成正比变化），克服了蛋白质间原有的形状差异。这样蛋白质-SDS 复合物在凝胶中的迁移率只取决于分子大小。蛋白质相对分子质量与电泳迁移率间的关系如公式(1-7)。

$$\lg M_r = K - bm \tag{1-7}$$

式中，M_r 为蛋白质相对分子质量；K 为常数；b 为斜率；m 为相对迁移率。

本实验采用目前常用的 SDS-不连续垂直板电泳方法，样品起点一致，便于比较。

三、实验材料与仪器

1. 仪器

直流稳压电泳仪，垂直平板电泳槽，脱色摇床，pH 计，移液器，微量进样器。

2. 材料

烧杯，锥形瓶，平皿，胶头滴管，离心管，吸头，一次性手套等。聚丙烯酰胺凝胶，低相对分子质量标准蛋白质，牛血清白蛋白。

3. 试剂

（1）凝胶贮备液　取丙烯酰胺（Acr）29.2g，亚甲基双丙烯酰胺（Bis）0.8g，加重蒸水至100mL，最好核实溶液的pH值不超过7.0，于棕色瓶内4℃冰箱避光保存。保存期1月至数月。

（2）分离胶缓冲液（1.5mol/L Tris-HCl，pH8.8）　取18.15g Tris（三羟甲基氨基甲烷），加适量蒸馏水溶解，用1mol/L HCl调pH到8.8，加蒸馏水定容至100mL，4℃冰箱保存。

（3）浓缩胶缓冲液（0.5mol/L Tris-HCl，pH6.8）　取6.00g Tris，加适量蒸馏水溶解，用1mol/L HCl调pH至6.8，加蒸馏水定容至100mL，4℃冰箱保存。

（4）10%SDS　取10gSDS，加蒸馏水至100mL，完全溶解后室温保存。

（5）10%过硫酸铵　取0.1g过硫酸铵，加蒸馏水至1mL，此溶液需临用前配制，最多可在4℃冰箱保存1周。

（6）电极缓冲液（pH8.3）　取Tris 3.02g、甘氨酸18.8g，用800mL蒸馏水溶解，加入10%SDS 10mL，用蒸馏水定容至1000mL，室温保存。

（7）0.25%溴酚蓝　250mg溴酚蓝，用蒸馏水定容至100mL。

（8）两类样品缓冲液

① 2倍浓缩还原缓冲液。具体配制成分见表1-4。

表1-4　2倍浓缩还原缓冲液配制

组　分	体　积	组　分	体　积
Tris-HCl(0.5mol/L,pH6.8)	2.5mL	溴酚蓝(0.25%)	0.5mL
甘油	2.0mL	β-巯基乙醇	1.0mL
SDS(10%)	4.0mL	总体积	10mL

② 2倍浓缩非还原缓冲液。具体配制成分见表1-5。

表1-5　2倍浓缩非还原缓冲液配制

组　分	体　积	组　分	体　积
重蒸水	1.0mL	SDS(10%)	4.0mL
Tris-HCl(0.5mol/L,pH6.8)	2.5mL	溴酚蓝(0.25%)	0.5mL
甘油	2.0mL	总体积	10mL

（9）低相对分子质量标准蛋白质　低相对分子质量标准蛋白质（上海产）开封后溶于200μL重蒸水，加200μL 2倍浓度样品缓冲液（还原缓冲液），分装20小管，−20℃保存。其相对分子质量（M_r）如表1-6。

表1-6　标准蛋白质相对分子质量

标准蛋白质名称	相对分子质量(M_r)	标准蛋白质名称	相对分子质量(M_r)
兔磷酸化酶b	97400	牛碳酸酐酶	31000
牛血清白蛋白	66200	胰蛋白酶抑制剂	20100
兔肌动蛋白	43000	鸡蛋清溶菌酶	14400

（10）染色液（0.25%考马斯亮蓝溶液）　0.25g考马斯亮蓝R-250，加入91mL 50%甲醇、9mL冰醋酸。

（11）脱色液　50mL甲醇、75mL冰醋酸与875mL重蒸水混合。

（12）N,N,N',N'-四甲基二乙胺（TEMED）

四、实验步骤

1. 准备玻璃板

玻璃板洗净擦干，组装好。

2. 分离胶的选择和配制方法

（1）分离胶的选择方法　按照蛋白质不同的相对分子质量选用不同浓度的分离胶，选择方案见表 1-7。

表 1-7　不同大小的蛋白质选择相应的凝胶浓度

分子质量/Da	适用的凝胶浓度/%	分子质量/Da	适用的凝胶浓度/%
$1\times10^4\sim4\times10^4$	15%～20%	$1\times10^5\sim5\times10^5$	5%～10%
$4\times10^4\sim1\times10^5$	10%～15%	$>5\times10^5$	2%～5%

（2）分离胶的配制方法　见表 1-8。

表 1-8　不同分离胶的配制方法　　单位：mL

总体积 / 溶液成分	总体积 5mL	总体积 10mL	总体积 15mL	总体积 20mL	总体积 25mL	总体积 30mL
6%						
水	2.6	5.3	7.9	10.6	13.2	15.9
30%丙烯酰胺	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0
1.5mol/L Tris(pH 8.8)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10% SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
10%过硫酸胺	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
TEMED	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02	0.024
总体积 / 溶液成分	总体积 5mL	总体积 10mL	总体积 15mL	总体积 20mL	总体积 25mL	总体积 30mL
10%						
水	1.9	4.0	5.9	7.9	9.9	11.9
30%丙烯酰胺	1.7	3.3	5.0	6.7	8.3	10.0
1.5mol/L Tris(pH 8.8)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10% SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
10%过硫酸胺	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012
总体积 / 溶液成分	总体积 5mL	总体积 10mL	总体积 15mL	总体积 20mL	总体积 25mL	总体积 30mL
12%						
水	1.6	3.3	4.9	6.6	8.2	9.9
30%丙烯酰胺	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0	12.0
1.5mol/L Tris(pH 8.8)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10% SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
10%过硫酸胺	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012

3. 分离胶的灌制

根据待测蛋白质样品的相对分子质量选择合适的分离胶浓度，本实验选用 12%的分离胶；按所需凝胶体积，根据表 1-8 计算出各组分应加入的量。

配制分离胶时，当加入 TEMED 后应立即混匀混合液，然后用注射器或滴管吸取分离胶，

在电泳槽的两玻璃板之间灌注，留出梳齿的齿高加 1cm 的空间以便灌注浓缩胶。小心地在溶液上覆盖一层重蒸水，将电泳槽垂直静置于室温下约 30～60min，分离胶聚合。待分离胶聚合完全后，除去覆盖的重蒸水，用滤纸吸干。

4. 浓缩胶的配制和灌制

一般采用 5%的浓缩胶，具体配制成分见表 1-9。

表 1-9 浓缩胶的配制 单位：mL

溶液成分 \ 总体积	总体积 3mL	总体积 4mL	总体积 5mL	总体积 6mL	总体积 8mL
水	1.72	2.2	2.77	3.35	4.5
30%丙烯酰胺	0.5	0.67	0.83	1.0	1.3
0.5mol/L Tris(pH 6.8)	0.76	1.0	1.26	1.5	2.0
10% SDS	0.03	0.04	0.05	0.06	0.08
10%过硫酸胺	0.03	0.04	0.05	0.06	0.08
TEMED	0.003	0.004	0.005	0.006	0.008

配制浓缩胶时，当加入 TEMED 后应立即混匀混合液，灌注在分离胶上。小心插入梳齿，避免混入气泡，将电泳槽垂直静置于室温下至浓缩胶完全聚合（约 30min）。

5. 样品的制备

（1）标准蛋白质样品的制备　取出一管预先分装好的 20μL 低相对分子质量标准蛋白质，放入沸水浴中加热 3～5min，取出冷至室温。

（2）待测蛋白质样品的制备

① 牛血清白蛋白（约含 5～10μg）加 10μL 2 倍浓缩还原缓冲液。

② 牛血清白蛋白（约含 5～10μg）加 10μL 2 倍浓缩非还原缓冲液。

6. 电泳

（1）电泳槽安装　待浓缩胶完全聚合后，小心拔出梳齿，用电极缓冲液洗涤加样孔（梳孔）数次，安装于电泳槽内。

（2）注入电极缓冲液　在内外水槽加注电极缓冲液。

（3）加样　用微量进样器按顺序向凝胶梳孔内加样，一般 10～25μL（1.5mm 厚的胶），并记录。

（4）电泳　盖好上盖，接通电泳仪，打开电源开关，调节电压使凝胶上所加电压为 8V/cm。待样品进入分离胶时（观察指示剂颜色），将电压提高到 15V/cm，继续电泳直至指示剂到达分离胶底部上方约 1cm，然后关闭电源。

7. 取出凝胶

从电泳槽中取下玻璃板，用刮刀撬开。紧靠最左边一孔（第一槽）凝胶下部切去一角以标注凝胶的方位。

8. 染色与脱色

用染色液染色 1～2h，或加温染色 30min。倾出染色液，加入脱色液，数小时更换一次脱色液，直至背景清晰。

五、实验结果

1. 电泳结果示意图

电脑截取或打印粘贴电泳结果示意图。

2. 相对迁移率的计算

结合电泳结果示意图（图 1-1），按公式(1-8) 计算。

相对迁移率＝样品迁移距离(mm)/染料迁移距离(mm)　　(1-8)

3. 待测样品中蛋白质相对分子质量的计算

以标准蛋白质相对分子质量的对数作纵坐标，相对迁移率作横坐标制作标准曲线。根据待测蛋白质样品的相对迁移率，从标准曲线上查出其相对分子质量的对数，求反对数即得待测蛋白质样品的相对分子质量。

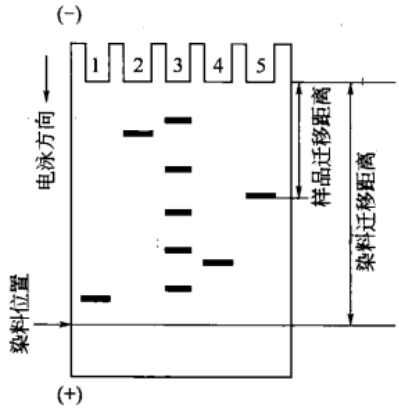


图 1-1　电泳结果示意

六、注意事项

1. 本实验所选方法测得的相对分子质量，除单链蛋白质外，均不是天然蛋白质的完整相对分子质量，而是组成这些蛋白质的亚基或肽链的相对分子质量。因此选择球蛋白及纤维状蛋白的分子量测定作为实验目标效果较好，而对于一些电荷异常、构象异常、带有大辅基的蛋白质等样品（如组蛋白 F_1、糖蛋白、胶原蛋白等）将导致测定结果差异较大。

2. 考马斯亮蓝染色可检测微克水平的蛋白质。

3. 因 SDS 可吸附考马斯亮蓝染料，染色前先用脱色液浸泡凝胶，洗去 SDS，可使染色及脱色时间缩短，并使蛋白质带染色而背景不染色。

4. 放梳子时要倾斜放入，免得梳齿下边产生气泡；取下梳子时也要倾斜用力；梳子要和玻璃板间距及胶条都吻合。

5. 电泳时，电泳仪与电泳槽间正、负极不能接错，以免样品反方向泳动，电泳时应选用合适的电流和电压，过高或过低均可影响电泳效果。

七、思考题

1. SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳的原理是什么？

2. β-巯基乙醇（β-ME）的作用是什么，不加 β-巯基乙醇与加入 β-巯基乙醇的电泳结果有何不同？

3. TEMED 易燃、有腐蚀性，请注意防护，且易挥发，使用后请立刻盖紧瓶盖。

实验八　谷物种子蛋白质中赖氨酸含量的测定

一、实验目的

掌握茚三酮比色法测定氨基酸含量的原理和方法，测定谷物种子蛋白质中赖氨酸含量。

二、实验原理

蛋白质中的赖氨酸具有一个游离的 ε-NH_2，它与茚三酮试剂反应生成蓝紫色物质，其颜色的深浅在一定范围内与赖氨酸的含量呈线性关系。因此，用已知浓度的游离氨基酸制作标准曲线，通过比色分析（530nm）即可测定出样品中的赖氨酸含量。

亮氨酸与赖氨酸的碳原子数目相同，而且仅有一个游离氨基（ε-NH_2），所以通常用亮氨酸配制标准液。但由于这两种氨基酸分子质量不同，以亮氨酸为标准计算赖氨酸含量时，应乘以校正系数 1.1515，最后再减去样品中游离氨基酸含量而得。

三、实验材料与仪器

1. 仪器

电子分析天平（1/1000），可见分光光度计，恒温水浴箱，干燥器，移液器，粉碎机，筛子（80～100 目）。

2. 材料

试管架（塑料或铝制），具塞试管，具塞锥形瓶，细口瓶，漏斗（或 0.45μm 滤膜），吸管等。玉米种子。

3. 试剂

（1）0.4mol/L 柠檬酸缓冲液　称取 4.202g 柠檬酸和 5.88g 柠檬酸三钠，溶于 100mL 蒸馏水中。

（2）茚三酮试剂　称 40mg 二氯化锡（防腐）溶于 25mL 柠檬酸缓冲液中；称 1g 茚三酮溶于 25mL 95%乙醇中；再将两溶液混合摇匀，滤去沉淀，上清液置冰箱中保存备用。

（3）0.02mol/L 盐酸　取 12mol/L 盐酸 0.17mL，用蒸馏水稀释定容至 100mL。

（4）200μg/mL 亮氨酸标准液　准确称取 20mg 亮氨酸，加数滴 0.02mol/L 盐酸使之溶解，然后用蒸馏水稀释定容到 100mL。

（5）60%乙醇

（6）4%碳酸钠　称取 4g 无水碳酸钠，溶于 100mL 蒸馏水。

（7）2%碳酸钠

四、实验步骤

1. 亮氨酸标准曲线的绘制

取 7 支具塞试管，按表 1-10 进行操作。以 1# 管为空白，在 530nm 波长下比色，记录各自的吸光度值。在 Excel 工作表中以吸光度值 A_{530nm} 为纵坐标，赖氨酸含量（μg）为横坐标，绘制标准曲线。

表 1-10　标准曲线的制作及样品测定参考表

试　剂	试管号						
	1#（空白）	2#	3#	4#	5#	6#	7#（样品）
亮氨酸标准液/mL	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	—
蒸馏水/mL	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0	—
亮氨酸含量/μg	0	20	40	60	80	100	—
4%碳酸钠/mL	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	—
脱脂样品/mg	—	—	—	—	—	—	15
2%碳酸钠/mL	—	—	—	—	—	—	1.0
	—	—	—	—	—	—	80℃水浴 20min
茚三酮试剂/mL	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
混匀，加塞，80℃水浴 30min，冷却至室温							
60%乙醇/mL	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
	—	—	—	—	—	—	过滤
混匀							
A_{530nm}							

2. 样品前处理

不同品种的玉米种子，用粉碎机粉碎，过 80～100 目筛子，收集过筛后的细粉，放入广口瓶中，加入沸程为 60～90℃的石油醚，使其没过粉面，浸泡 8h，不时摇动进行脱脂。然后过滤，并用石油醚淋洗沉淀若干次，弃去滤液。将脱脂玉米粉晾在干净的滤纸上，置阴凉通风处吹干石油醚。收集干粉，置于干燥器内，保存备用。

3. 样品中赖氨酸含量的测定

取 15mg 已粉碎脱脂的玉米样品于干燥具塞的试管内，加 2%碳酸钠 1.0mL，于 80℃水浴中提取 20min，然后加茚三酮试剂 2.0mL，继续保温显色 30min，冷却后加 60%乙醇 3.0mL，混匀后过滤或离心获得待测样品。以 1# 管为空白，在 530nm 波长下比色，记录样品的吸光度值（A_{530nm}）。

五、实验结果

1. 标准曲线的示意图

绘制标准曲线，要求获知标准曲线回归方程及其相关系数 R^2 值。

2. 样品中赖氨酸含量计算

按公式(1-9) 计算。

$$\text{样品中赖氨酸的含量}(\%)=[\text{从标准曲线上查得值}(\mu g)\times 10^{-3}/\text{样品重}(mg)]\times 1.1515\times 100\%-c \quad (1\text{-}9)$$

式中，1.1515 为校正系数；c 表示游离氨基酸含量，如：玉米 0.01%、小麦 0.05%、水稻 0.01%、高粱 0.04%。

六、注意事项

茚三酮显色反应受温度、pH、时间影响较大，要使实验结果能很好重复，必须严格控制实验条件。样品中如含有大量盐酸会使氨基酸不易显色。

实验九　苯丙氨酸解氨酶的纯化与活性测定

一、实验目的

本实验属于综合性设计实验，以 PAL 为例，借助于对比分析的研究方法，使学生综合分析纯化技术对目标酶蛋白分子总活力、比活力影响情况，并熟练掌握酶的纯化的基本操作和酶活力测定方法。

二、实验原理

苯丙氨酸解氨酶（PAL）是植物体内苯丙烷类代谢的关键酶，与一些重要的次生物质如木质素、异黄酮类植保素、黄酮类色素等的合成密切相关，在植物正常生长发育和抵御病菌侵害过程中起重要作用。PAL 可催化 L-苯丙氨酸裂解为反式肉桂酸和氨，反式肉桂酸在 290nm 处有最大吸收值。若酶的加入量适当，A_{290nm} 升高的速率可在几小时内保持不变，因此通过测定 A_{290nm} 升高的速率以测定 PAL 活力。规定 1h 内 A_{290nm} 增加 0.01 为 PAL 的 1 个活力单位。酶的比活力是指样品中每毫克蛋白质所含的酶活力单位数。在实验中将会看到，随着 PAL 逐步被纯化，其比活力也在逐步增加。

在蛋白质溶液中加入一定量的中性盐（如硫酸铵、硫酸钠等）使蛋白质沉淀析出称为盐

析。溶液的盐浓度通常以盐溶液的饱和度表示，饱和溶液称100%饱和度。沉淀某一种酶所需的具体浓度，需要经实验确定。

交联葡聚糖凝胶（商品名称为Sephadex）是由细菌葡聚糖长链，用交联剂1-氯-2,3-环氧丙烷交联而成。凝胶商品名后面的G值表示每克干胶吸水量（mL）的10倍。交联度大，网孔小；交联度小，网孔大。交联度的大小还与凝胶颗粒的机械强度有关，交联度大，机械强度也大（硬胶），在柱色谱过程中流速快。

根据需要，选用一定型号的凝胶作柱色谱介质（蛋白脱盐一般用G-25或G-50，G-100～G-200主要用来分离不同分子质量的蛋白质组分）。由于被分离物质的分子大小和形状不同，分子质量大的由于不能进入凝胶的网孔中，而沿着颗粒间间隙最先流出柱子；分子质量小的由于进入凝胶网孔中被阻滞，从而后流出柱子，达到分离的目的。

DEAE纤维素是以天然纤维素为母体联结了二乙基氨基乙基制备而成。DEAE纤维素柱色谱属于阴离子交换色谱中的一种，DEAE纤维素经过处理上柱后，由于静电吸力等可吸引在固定相和流动相中的一些阴离子（如OH^-、Cl^-等）。

蛋白质分子在水溶液中可以作两性解离，控制溶液pH，可使蛋白质分子或成为阴离子，或成为阳离子。对于DEAE纤维素而言，应使酶溶液pH大于酶蛋白分子的p*I*，使其成为阴离子。洗脱时，可以用阶段洗脱法，即先后更换不同离子强度（或pH）的洗脱液；也可以用梯度洗脱法，使洗脱液的pH或离子强度在洗脱过程中产生一个连续的梯度变化。

三、实验材料与仪器

1. 仪器

高速冷冻离心机，恒温水浴锅，电子天平，分光光度计，恒流泵，自动部分收集器，核酸蛋白检测仪。

2. 材料

研钵，刻度试管，烧杯，剪刀，量筒，色谱柱，滴管；供试植物材料。

3. 试剂

① 0.1mol/L硼酸-硼砂缓冲液（pH8.7，含1mmol/L EDTA、20mmol/L β-巯基乙醇）。本实验中作为酶提取液。

② 0.6mol/L L-苯丙氨酸溶液。

③ 6mol/L HCl。

④ 固体硫酸铵。

⑤ 0.02mol/L磷酸盐缓冲液（pH8.0，含0.5mmol/L EDTA、2.5%甘油、20mmol/L β-巯基乙醇）。

⑥ Sephadex G-25。

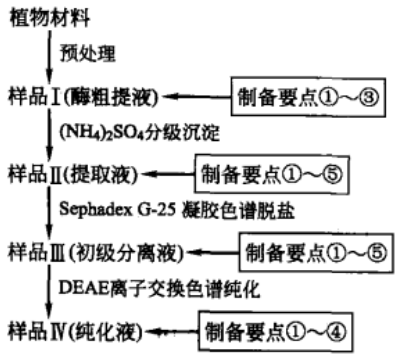
⑦ DEAE纤维素52。

⑧ 100μg/mL标准蛋白质溶液　准确称取10mg牛血清白蛋白于烧杯内，用蒸馏水溶解后，完全转移到100mL容量瓶内，定容至刻度，混匀。

⑨ 考马斯亮蓝G-250蛋白质染色液　称取10mg考马斯亮蓝G-250，溶于5mL 95%乙醇中，加入85%（w/v[1]）磷酸10mL，混匀后即为母液。用时，按15mL母液加85mL蒸馏水的比例稀释，混匀后过滤即为稀释液。

[1] 1%（w/v）相当于1g/100mL。

四、实验方案设计思路



五、操作步骤

1. 样品Ⅰ制备要点

① 以植物材料 1g，剪成小段，加入 5 倍体积的酶提取液，于冰浴上用研钵研磨。

② 将已匀浆的酶液，用三层纱布过滤。滤液转入离心管，10000g 冷冻离心 30min。

③ 取离心后的上清液（酶粗提液），量出其体积，放置冰浴中备用。

2. 样品Ⅱ制备要点

① 从酶粗提液中吸出 0.5mL，以作后面活力测定用。余下酶液根据实际体积、温度和硫酸铵饱和度用量表（见附表 1-1，附表 1-2），算出达到 38%饱和度时应加入酶液中的硫酸铵量，并依此准确称取硫酸铵。

② 将酶液倒入烧杯内，边缓慢搅拌边加入称好的固体硫酸铵，待全部加完后，再缓慢搅拌 10min；然后于 10000g 下冷冻离心 10min，保留上清液于烧杯内。

③ 根据硫酸铵饱和度用量表，算出从 38%到 75%饱和度所需硫酸铵用量。

④ 按上述②步同法处理，离心后，弃去上清液，保留沉淀。

⑤ 将沉淀溶于 1mL 酶抽提液中。

3. 样品Ⅲ制备要点

① 凝胶溶胀。称取 Sephadex G-25 约 5g，加入适量 0.02mol/L 磷酸盐缓冲液，在室温下溶胀。待溶胀平衡后，虹吸去除上清液中的细小凝胶颗粒，如此处理 2～3 次。

② 装柱。固定好色谱柱，柱保持垂直，将 20mL 蒸馏水装入柱内，打开止水夹赶去出口内气泡，当柱内保留 1mL 左右水层时，把处理好的 Sephadex G-25 用玻璃棒搅匀，尽量一次加入柱内，待胶床表面仅有 1～2cm 液层时，旋紧止水夹。装好的胶柱应无气泡、无节痕，胶床面平整，床面铺 1 张圆形滤纸片。

③ 上样。使胶床表面几乎不留液层，将 1mL 酶液小心注入胶床面中央，注意不要冲坏床面，吸取 1mL 磷酸盐缓冲液，把吸附在玻璃壁上的沉淀液洗入柱内，在床表面仅有 1mm 左右液层时，再小心地用滴管加入 5～6cm 高的磷酸盐缓冲液洗脱。

④ 洗脱收集。取刻度试管 5 支，编号，柱床上面不断加磷酸盐缓冲液洗脱，出水口不断用刻度试管收集洗脱液，每管收集 3mL。

⑤ 测定。测定每管的 PAL 酶活力，合并 PAL 活力高的试管，即为酶洗脱液。

4. 样品Ⅳ制备要点

① 预处理。称取 DEAE 纤维素 52 干粉 1～1.5g，加 20mL 0.02mol/L 磷酸盐缓冲液（pH8.0）浸泡 4h 以上（或浸泡过夜）。

② 装柱。把预处理的 DEAE 纤维素 52 装柱（方法及要求同凝胶色谱柱）。装柱完成后，

用 2～3 个床体积的 0.02mol/L 磷酸盐缓冲液（pH8.0）洗脱平衡该柱。

③ 上样。把所得的酶洗脱液小心注入柱床面中央，所有注意点和方法与凝胶色谱中上样相似。上样结束后，在床面以上小心地加入 0.02mol/L 磷酸盐缓冲液至 2～3cm 厚液层。注意上样开始就收集流出液。

④ 洗柱。约用 2 倍床体积的 0.02mol/L 磷酸盐缓冲液洗柱，收集洗柱液。分别取洗脱液 0.1mL，测 PAL 活力（参考酶活力测定）；合并主要含有 PAL 活力的各管洗脱液，并量出其总体积（mL）。

六、待测样品中蛋白质含量的测定

1. 牛血清白蛋白标准曲线的绘制

按照表 1-11 进行实验，以 1# ～5# 的吸光度值 A_{295nm} 为纵坐标，5 个管中标准品以牛血清白蛋白质量（μg）为横坐标，在 Excel 工作表中绘制标准曲线，并获得标准曲线回归方程及其相关系数 R^2 值。

2. 比色

采用考马斯亮蓝 G-250 染色法。将四种待测样品各取 0.1mL，分别用蒸馏水稀释至 5mL 后，取 14 只试管，按照表 1-11 操作。将各管混匀后静置 2min 后，以 0# 为空白，在 295nm 波长下比色，记录各自的吸光度值（A_{295nm}）。

表 1-11　蛋白质加样方法

待测样品编号	牛血清白蛋白标准品						样品Ⅰ		样品Ⅱ		样品Ⅲ		样品Ⅳ	
试管编号	0#	1#	2#	3#	4#	5#	6#	7#	8#	9#	10#	11#	12#	13
标准蛋白质溶液/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—
稀释液/mL	—	—	—	—	—	—	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
蒸馏水/mL	2.0	1.8	1.6	1.4	1.2	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
考马斯亮蓝/mL	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
A_{290nm}														

3. 待测样品中蛋白质含量计算

将四种样品各自的吸光度值（A_{295nm}）平均值代入到标准曲线回归方程，求解待测样品中蛋白质含量，并将结果填至表 1-12 中。

表 1-12　PAL 蛋白质含量、总活力、比活力的计算

步　骤	体积/mL	蛋白质含量/mg	总活力/u	比活力/(u/mg 蛋白质)
样品Ⅰ				
样品Ⅱ				
样品Ⅲ				
样品Ⅳ				

七、待测样品中 PAL 酶活力的测定

1. 比色

取 6 只试管，按表 1-13 操作，其中 A# 为空白管，B# 为样品测定管，C# 为对照管。将各管混匀后放入 40℃恒温水浴保温 1h 后，加 0.2mol/L HCl 终止反应。以 A# 管为空白管进行比色，记录各自的吸光度值 A_{290nm}。

2. PAL 酶总活力计算

表 1-13　酶活力测定加样方法

试管编号	A#	$B_1^{\#}$	$B_2^{\#}$	$B_3^{\#}$	$B_4^{\#}$	C#
pH8.7 的 0.1mol/L 硼酸缓冲液/mL	4.00	3.90	3.90	3.90	3.90	4.90
酶液/mL	—	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
0.6mol/L L-苯丙氨酸溶液/mL	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	—
A_{290nm}						

八、实验结果

1. 绘制牛血清白蛋白标准曲线示意图与回归方程。
2. 四种样品中 PAL 总活力、比活力、蛋白质含量的计算。

① 蛋白质含量计算。

② PAL 总活力计算。

③ PAL 比活力计算。见式(1-10)。

酶比活力＝(酶液中 PAL 总活力单位数)/[酶液中蛋白质总质量(mg)]　　(1-10)

九、注意事项

1. 往酶液中加固体硫酸铵时，注意不能有大颗粒，加的速度也不能过快。
2. 色谱柱要保持与地面垂直，往柱内加样品时要小心，避免冲坏床面。

十、思考题

1. 在 PAL 活力测定时，设置空白管和对照管的目的是什么？
2. Sephadex G-25 柱色谱脱盐成功的关键有哪些？

附表 1-1　调整硫酸铵溶液饱和度计算表（25℃）

硫酸铵初浓度/%饱和度	在25℃硫酸铵终浓度/%饱和度																	
		10	20	25	30	33	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	90	100
	在25℃条件下，硫酸铵溶液由初始浓度调整到终浓度时，每1L溶液所加固体硫酸铵的量(g)																	
	0	56	114	144	176	196	209	243	277	313	351	390	430	472	516	561	662	767
	10		57	86	118	137	150	183	216	251	288	326	365	406	449	494	592	694
	20			29	59	78	91	123	155	189	225	262	300	340	382	424	520	619
	25				30	49	61	93	125	158	193	230	267	307	348	390	485	583
	30					19	30	62	94	127	162	198	235	273	314	356	449	546
	33						12	43	74	107	142	177	214	252	292	333	426	522
	35							31	63	94	129	164	200	238	278	319	411	506
	40								31	63	97	132	168	205	245	285	375	469
	45									32	65	99	134	171	210	250	339	431
	50										33	66	101	137	176	214	302	392
	55											33	67	103	141	179	264	353
	60												34	69	105	143	227	314
	65													34	70	107	190	275
	70														35	72	153	237
	75															36	115	198
	80																77	157
	90																	79

附表 1-2　不同温度下饱和硫酸铵溶液的数据

温度/℃	0	10	20	25	30
质量分数/%	41.42	42.22	43.09	43.47	43.85
摩尔浓度/(mol/L)	3.9	3.97	4.06	4.10	4.13
每 1000g 水中含硫酸铵物质的量/mol	5.35	5.53	5.73	5.82	5.91
1000mL 水中用硫酸铵质量/g	706.8	730.5	755.8	766.8	777.5
每 1000mL 溶液中含硫酸铵质量/g	514.8	525.2	536.5	541.2	545.9

第二章　食品化学实验指导

实验一　食品水分活度的测定

一、实验目的

掌握食品水分活度的测定原理和方法；学习一种作图定量的方法。

二、实验原理

样品分别在水分活度（A_w）较高和较低的标准饱和溶液中扩散平衡后，根据样品质量增加（在较高 A_w 标准饱和溶液平衡后）或减少（在较低 A_w 标准饱和溶液平衡后）的量，可计算出样品的 A_w 值。

三、实验材料与仪器

1. 试剂

标准水分活度试剂（根据所选样品，从表 2-1 中选出四种，其中两种试剂的 A_w 值大于样品的 A_w，另两种试剂的 A_w 值小于样品的 A_w）。

表 2-1　标准水分活度试剂

试剂名称	A_w	试剂名称	A_w	试剂名称	A_w
重铬酸钾　$K_2Cr_2O_7 \cdot H_2O$	0.980	硝酸钠　$NaNO_3$	0.737	氯化镁　$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	0.330
硝酸钾　$KNO_3 \cdot H_2O$	0.924	氯化锶　$SrCl_2 \cdot H_2O$	0.708	乙酸钾　$KAc \cdot H_2O$	0.224
氯化钡　$BaCl_2$	0.901	溴化钠　$NaBr$	0.577	氯化锂　$LiCl \cdot H_2O$	0.110
氯化钾　KCl	0.842	硝酸镁　$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	0.528	氢氧化钠　$NaOH \cdot H_2O$	0.070
溴化钾　KBr	0.827	硝酸锂　$LiNO_3 \cdot 3H_2O$	0.470		
氯化钠　$NaCl$	0.752	碳酸钾　$K_2CO_3 \cdot 2H_2O$	0.427		

2. 器材

天平（1/10000），康维微量扩散皿，铝箔，恒温培养箱。

四、实验步骤

1. 样品处理

随机采取样品 10～20g，迅速切碎混匀，从中取出约 1g，置于预先精确称量过的铝皿或铝箔（ϕ25mm）上，精称后作为试样。称取四份。

2. 测定方法

取四只康维皿，于皿的四周涂好凡士林。将试样迅速放入皿的内室，将 A_w 值大于或小于试样的四种饱和溶液各 5mL 分别置于四只皿的外室，加盖密封，在（25±0.5）℃温度下放置（2±0.5）h。取出铝皿（铝箔），精确称量后求出试样的增减质量。

五、实验结果

1. 公式法

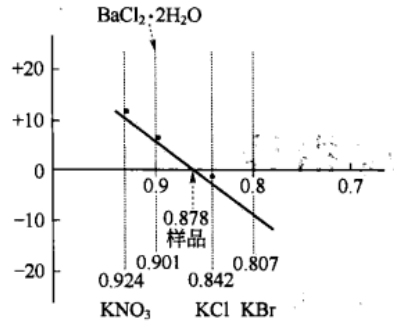


图 2-1　样品 A_W 测定图

试样的水分活度为：

$$A_W=(bX-aY)/(X-Y)$$

式中，a 为饱和溶液 A 的 A_W 值；b 为饱和溶液 B 的 A_W 值；X 为使用饱和溶液 A 时，试样质量的增加量，g；Y 为使用饱和溶液 B 时，试样质量的减少量，g。

注：从四个饱和溶液中，选取大于（A）和小于（B）样品 A_W 值的各一份溶液参与计算。

2. 作图法

用坐标图求出水分活度值：纵坐标为质量增或减的量（mg），横坐标为各标准试剂的水分活度值，作出标准试剂水分活度值变化的曲线（图 2-1），连接各点得到近似的一条直线，此线与横坐标的交点即为试样的水分活度值。

六、注意事项

1. 取样要在同一条件下进行，操作要迅速。
2. 试样的大小和形状对结果的影响较小。
3. 康维皿的密封性要好。

实验二　碳水化合物的定性反应实验

一、实验目的

1. 了解糖类的各种定性反应方法。
2. 学习单糖与双糖、还原糖与非还原糖、酮糖与醛糖、戊糖与己糖的鉴别方法。

二、莫利希（Molisch）反应实验

1. 实验原理

糖与浓酸作用后，戊糖变成糠醛，己糖变成羟甲基糠醛，它们与酚衍生物作用产生特殊的颜色。如果反应为阳性，说明样品可能是糖类，但淀粉多糖类无此反应。

2. 实验材料与仪器

1%葡萄糖，蔗糖，淀粉溶液，5%α-萘酚乙醇溶液（乙醇含量为 95%），浓硫酸。

3. 实验方法

取三支试管，各加 5mL 1%葡萄糖液、蔗糖液、淀粉液，再各加 3～5 滴新配制的 5% α-萘酚乙醇溶液，充分摇匀。然后沿各试管壁缓缓加入浓硫酸 2mL，浓硫酸沉至管底，在糖液与浓硫酸的界面间产生紫红色的色环。冷却并缓缓摇匀，则成紫红色液。

三、费林（Fehling）反应实验

1. 实验原理

此反应可区别还原糖与非还原糖，还原糖的还原性可使铜离子还原成氧化亚铜（呈砖红色）。

2. 实验材料与仪器

1%葡萄糖溶液，1%果糖溶液，1%麦芽糖溶液，1%蔗糖溶液。费林试剂 A：溶解 34.65g 结晶硫酸铜（$CuSO_4 \cdot 5H_2O$）于 560mL 蒸馏水中；费林试剂 B：取氢氧化钠 125g、酒石酸钾钠 173g，一并溶于 500mL 蒸馏水中。两液分别保存，用时等量混合。

3. 实验方法

取四支试管，各加费林试剂 A、B 液各 2mL，混匀，加热（应无任何反应）。然后各加入 1mL 1%葡萄糖液、1%果糖液、1%麦芽糖液、1%蔗糖液，加热，即可发现除蔗糖溶液外，均可生成红色沉淀。

四、巴福德（Bafoed）反应实验

1. 实验原理

此反应可区别单糖与双糖。巴福德试剂是弱酸性含有铜盐的水溶液，利用单糖还原性较强、双糖还原性较弱的原理（蔗糖无还原性），可以看出单糖比双糖反应快，将铜离子还原成氧化亚铜（呈黄色或红色）。

2. 实验材料与仪器

10%葡萄糖溶液，10%麦芽糖溶液，10%蔗糖溶液，8.5%乳酸。巴福德试剂：将 34g 乙酸铜溶于 450mL 沸腾蒸馏水中，立即加入 25mL8.5%乳酸，搅拌冷却后，用蒸馏水定容至 500mL，过滤备用。

3. 实验方法

取三支试管，各加 5mL 巴福德试剂，再分别加入 1mL10%葡萄糖液，在沸水浴中加热，隔 5min 仔细检查一次管底有无沉淀物（黄色或红色）。双糖加热时间约在 15min 以下时，无沉淀生成。

五、舍利万诺夫（Seliwanoff）反应实验

1. 实验原理

此反应可区别酮糖与醛糖。反应原理与莫利希反应相同，但醛糖反应慢、颜色淡，这样可以区别酮糖和醛糖。

2. 实验材料与仪器

1%葡萄糖溶液，1%果糖溶液，1%蔗糖溶液。舍利万诺夫试剂：溶解 0.05g 间苯二酚于 50mL 浓硫酸中，然后加入 50mL 蒸馏水。

3. 实验方法

取三支试管，各加 3mL 舍利万诺夫试剂，再分别加入 1mL1%糖液，在沸水浴中煮沸1～2min，生成红色或红褐色沉淀，此沉淀溶于乙醇，溶液呈暗红色。本实验中蔗糖含有一分子果糖，故也能发生同样的反应。

六、比亚尔（Bial）反应实验

1. 实验原理

此反应可区别戊糖与己糖，是戊糖的特性反应。戊糖与无机酸相混匀，加热后生成糠醛，然后糠醛与芳香族醇缩合而生成绿蓝色色素物质。

2. 实验材料与仪器

1%木糖溶液，1%阿拉伯糖溶液，1%葡萄糖溶液。10%三氯化铁溶液。比亚尔试剂：取苔黑酚约 0.5g，溶于 250mL30%盐酸中，再滴入 15 滴 10%三氯化铁溶液。

3. 实验方法

取三支试管，各加 4mL 比亚尔试剂，在沸水浴中加热，分别加入 1mL1%糖液，加入戊糖的试管液呈绿蓝色。

七、多糖类的定性反应实验

1. 实验原理

本反应用碘溶液区别：纤维素不溶于水，与碘不反应；其他多糖与碘呈不同颜色，淀粉呈蓝色、糊精呈红色、糖原呈红紫色。

2. 实验材料与仪器

1%淀粉溶液，1%葡萄糖溶液，0.3%稀碘溶液，10%硫酸溶液。

3. 实验方法

取两支试管，各加入1mL1%淀粉液和1%葡萄糖液，再各加2滴稀碘溶液，有蓝色发生的试管为淀粉液试管。加热该试管，此时淀粉碘反应消失，冷却后又生成蓝色。在该试管中加入1mL10%硫酸溶液，放入沸水浴中煮沸（水解），可以看到蓝色逐渐消退直至无色，冷却后也不变成蓝色，表示淀粉已被水解。

八、综合分析

将定性反应的实验原理与其显色反应对比分析，并做出对比分析统计表（表2-2）。

表2-2 碳水化合物显色反应结果

碳水化合物	浓度/%	反应类型					
		莫利希反应	费林反应	巴福德反应	舍利万诺夫反应	比亚尔反应	多糖类定性反应
葡萄糖	1						
	10						
蔗糖	1						
	10						
麦芽糖	1						
	10						
淀粉	1						
果糖	1						
木糖	1						
阿拉伯糖	1						

注：表中空格内标准“+”表示有显色反应，“—”表示无显色反应。

实验三 淀粉的糊化和凝胶化实验

一、实验目的

1. 了解淀粉糊化和凝胶形成作用的不同。
2. 了解直链/支链淀粉比改变对淀粉糊黏度和淀粉凝胶强度的影响。
3. 了解淀粉浓度、类型、糊化温度以及蔗糖、有机酸对淀粉糊化及凝胶形成的影响。

二、实验原理

常见的食用淀粉包括谷物淀粉、块茎淀粉和豆类淀粉等。淀粉处于淀粉粒状态是不能食用的，不论是为了去除生淀粉的风味、提高淀粉的消化性，还是发挥淀粉的增稠和凝胶作用，都要求使淀粉糊化。淀粉糊化时，其黏性和凝胶性质因淀粉品种不同而不同。这主要是由于不同品种淀粉所含的直链淀粉和支链淀粉比例不同，另外淀粉粒大小和聚合度不同也有一定的影响。

普通玉米、小麦、马铃薯淀粉中直链/支链淀粉比分别为 23/77、24/76 和 22/28，大米淀粉中该比值为 17/83，蜡质玉米和糯米淀粉中很少或几乎不含直链淀粉，而绿豆和豌豆淀粉中很少含支链淀粉。这种不同造成了它们具有不同的食用功能。

淀粉粒在水中加热所发生的变化叫糊化。常温下，淀粉悬液中的淀粉粒无明显变化；随着加热到 60～70℃，水分子可穿透淀粉粒中的无定形区；继续升温则结晶区的氢键被打断，整个淀粉粒会更加疏松膨胀。使全部淀粉粒发生膨胀，双折射现象从开始失去到完全失去的温度范围叫糊化温度范围（见表 2-3）。在糊化中除淀粉膨胀外，直链淀粉还会从膨胀的淀粉粒中向外淋滤，当直链淀粉扩散到水中后就形成胶体溶液，而未破坏的淀粉粒悬浮于其中。当温度更高时，淀粉粒便破裂成一系列片段。

表 2-3　不同粮食淀粉的糊化温度范围

粮　食	双折射现象失去的温度/℃		
	开　始	中　点	终　点
玉米	62	66	70
小麦	59.5	62.5	64
马铃薯	58	62	66
大米	68	74.5	78
蜡质玉米	63	68	72
绿豆、豌豆	57	65	70
高直链玉米	67	80	高于 100

糊化后的淀粉液冷却时，直链淀粉间首先形成氢键而相互结合，当高度膨胀的淀粉粒与临近的直链淀粉间形成广泛的三维网状结构而形成凝胶，大量水固定在该网状结构中。凝胶形成后的前几个小时，凝胶强度不断加强，直至趋于稳定。仅仅含支链淀粉的淀粉粒溶液不能形成凝胶（尽管黏度可能不小），除非含量高达 30%以上。一般情况下，增加直链淀粉的比例，增稠作用（黏度引起）和凝胶强度都增加。

淀粉的糊化、凝胶化和增稠性质极易受食品中多种其他成分影响。蔗糖会使黏度降低，能使糊化起始温度提高，还能使膨胀的淀粉更耐机械作用力，而不易被打碎。酸能使淀粉糊黏度降低，也能使淀粉凝胶强度降低。在酸热作用下，淀粉会水解为糊精，既会导致淀粉粒过早片段化，又会导致进入溶液的直链淀粉部分水解。但不论是蔗糖还是酸都会使淀粉糊更加透明。

三、实验材料与仪器（以一组实验计）

1. 材料

冰若干，白糖 110g，柠檬汁 110mL，玉米淀粉 80g，小麦淀粉 40g，马铃薯淀粉 40g，大米淀粉 40g，绿豆淀粉 40g。

2. 器材

温度计 1 支，线扩散模具（或用切口整齐的粗玻璃管代替）2 个，小玻板（10cm×10cm）48 块，300mL 塑料开水杯 16 个，锅 2 个，肉串扦 2 个，碗 16 个，500mL 刻度量筒 2 个。

3. 基本配方

玉米淀粉 16g，水 236mL。

四、实验步骤

1. 基本操作

称料、校正温度计后把淀粉与水加入锅中，搅匀后文火加热，在不断搅动下直至沸腾，记录沸点温度，在沸腾下搅动保持 1min。将锅从火上移开，自然冷却至 90℃时取 20mL 热溶胶

液，加入线扩散模具（放于玻璃板上），然后提起模具让溶胶液自然向四周分散，直到停止扩散（或限定扩散时间为 1min）。测量线扩散在东、南、西、北四个方向的扩散距离，其平均值即为线扩散值。

完成线扩散测量后，将剩余溶胶液的一部分（定量，如 150mL）倒入塑料杯中，用玻板盖住杯口，然后放入冰水碗中冷却，另一部分自然冷却。当温度达到 30℃时，再取 20mL 作线扩散实验。冰水碗内的塑料杯可在凝胶形成后取出，尽量控制使冷却时间和最终温度在各次实验中相同。用肉串扦插入杯内的凝胶中，测量凝胶高度。然后将杯中凝胶块倒在玻璃板上，再次用肉串扦测量高度，求出凝胶下陷百分比。

下陷百分比(%)=(容器内高度－容器外高度)/容器内高度×100

2. 改变淀粉种类

① 用 16g 小麦淀粉代替玉米淀粉，然后按基本配方、基本操作完成。

② 用 16g 马铃薯淀粉，其他同①。

③ 用 16g 大米淀粉，其他同①。

④ 用 16g 绿豆淀粉，其他同①。

3. 变化淀粉浓度

① 用 8g 玉米淀粉（而不是 16g 玉米淀粉）、236mL 水为配方，按基本操作完成。

② 用 8g 小麦淀粉，其他同①。

③ 用 8g 马铃薯淀粉，其他同①。

④ 用 8g 大米淀粉，其他同①。

⑤ 用 8g 绿豆淀粉，其他同①。

4. 添加蔗糖和柠檬汁

① 在基本配方中增加 25g 蔗糖，其他操作不变。

② 在基本配方中增加 50g 蔗糖，其他操作不变。

③ 在基本配方中用 30mL 柠檬汁取代相同量的水，其他操作不变。

④ 在基本配方中用 60mL 柠檬汁取代相同量的水，其他操作不变。

5. 糊化温度研究

将五种淀粉分别按基本配方的量配料后，依次进行一次下列实验。配料入锅，文火加热，不断搅动，随时监测温度。当温度到达 70℃、80℃、90℃、95℃、沸腾温度时立即作线扩散实验。

6. 感官评价

本实验只目测所制凝胶块的透明度，以 5 分制评定结果。

五、实验结果

将上述实验结果记录于表 2-4 中。

表 2-4　实验结果记录

编号	配方	糊化温度	沸点	线扩散值		下陷/%	感官(透明度)
				(热)	(冷)		

六、注意事项

淀粉糊化时需文火加热，并需不断搅动，且随时监测温度。

实验四　橘皮中果胶提取与含量测定

一、果胶的提取

1. 实验目的

① 掌握食品中果胶的提取方法。

② 了解果冻制作的方法。

2. 实验原理

果胶是高分子糖类化合物，是一种植物性天然胶体物质，广泛存在于苹果、山楂和柑橘类等的果实及其他植物体内。果胶在植物体中以原果胶、果胶酸酯和果胶酸三种形式存在。原果胶用稀酸处理或与果胶酶作用时可转变为可溶性果胶。可溶性果胶的基本结构是多聚半乳糖醛酸，其中部分羟基被甲醇酯化为甲酰基。一般植物中的果胶甲氧基含量约占全部多聚半乳糖醛酸结构（包括被酯化的羟基）的7%～14%。甲氧基含量高于7%的果胶，称为高甲氧基果胶，即普通果胶；普通果胶中甲氧基含量越多，胶冻能力越大。甲氧基含量低于7%的果胶称低甲氧基果胶，几乎无胶凝力；但若有多价金属离子（如 Ca^{2+}、Mg^{2+}、Al^{3+} 等）存在时可生成凝胶，多价离子起了果胶分子交联剂的作用。

果胶为白色或淡黄褐色粉末，溶于水成黏稠状液体，对石蕊试纸呈酸性。果胶与适量的糖和有机酸一起煮，可形成柔软而有弹性的胶冻。基于此特性，果胶在食品工业中用来制造果酱、果冻、巧克力、糖果等，也可用作冷饭食品、冰激凌、雪糕等的稳定剂，在医药上果胶可作为肠道出血的止血剂。

3. 实验材料与仪器

（1）试剂　0.1mol/L HCl，95%乙醇，白糖，柠檬酸。

（2）器材　干燥器，抽滤瓶，布氏漏斗，尼龙袋或尼龙细布袋一只。

4. 实验步骤

（1）果胶提取　称干橘皮15g，用水洗净，稍软，剪碎，置于600mL烧杯中，加水150～200mL，煮沸10min（去除糖类、色素、苦味等），弃去水，用冷水反复漂洗残渣，挤干后称重；置500mL烧杯中，加入残渣重3倍量的0.1mol/L HCl煮沸10min，趁热用尼龙细布袋过滤（布袋用水浸湿挤干），挤压布袋使滤渣挤干，弃去滤渣，把布袋洗净后将滤液再过滤一次；然后把滤液浓缩至50mL，冷却，滤液中加95%乙醇至混合液中乙醇浓度达60%止，用玻璃棒搅匀，得到胶体溶液；用布氏漏斗吸滤得到果胶沉淀。把果胶转移到烧杯中，用少量95%乙醇洗涤，吸滤（重复一次）；把果胶转移到滤纸上，吸干水，搓碎后放表面皿上于干燥器中过夜（也可用烘箱烘干），用乳钵研磨后得果胶粉，计算得率。

（2）果冻制作　称取自制果胶0.2g于10mL烧杯中，加水3mL，加热使果胶溶解；加蔗糖3g搅匀，放置数小时后即得凝胶（果胶凝胶需在酸性介质中，即pH2.8～3.3下胶凝作用最好。若酸度不够，可以用柠檬酸加以调节）。

5. 注意事项

① 在形成果胶的胶体溶液时，所加入的乙醇最终浓度需达到60%，需用95%乙醇及溶液的体积计算求得其加入量。

② 用布氏漏斗吸滤时须用双层滤纸，以防止抽破。

二、果胶含量测定

1. 实验目的

掌握食品中果胶含量测定的原理和方法。

2. 实验原理

果胶通常由原果胶、果胶酸酯和果胶酸三种物质组成，这三种物质的基本结构骨架都是聚半乳糖醛酸。聚半乳糖醛酸是由半乳糖酸通过 1，4-糖苷键连接起来的链状化合物。原果胶通常与植物细胞壁的纤维素和半纤维素结合，不溶于水，经酸、碱或酶水解后，产生水溶性果胶酸酯和果胶酸。果胶酸酯通常是果胶酸的甲基酯，经皂化反应产生果胶酸钠和甲醇。果胶物质通常用稀酸水解和提取。

果胶酸酯可通过皂化反应测定反应中的耗碱量，从而计算出它的含量。果胶酸的含量可用氢氧化钠滴定法进行测定。

3. 实验材料与仪器

(1) 试剂

① 95%乙醇，2mol/L HCl，0.5%中性红乙醇（70%）溶液。

② 0.1mol/L 和 0.2mol/L NaOH 溶液。称取 5gNaOH，用煮沸并冷却到室温的蒸馏水溶解，定容到 250mL。此溶液的浓度约 0.5mol/L，用草酸标定，然后分别稀释到 0.1mol/L 和 0.2mol/L。

③ 0.1mol/L 和 0.2mol/L HCl 溶液。用浓盐酸稀释到大约 0.4mol/L，准确吸取此溶液 10mL，用 0.2mol/L NaOH 标定，然后分别稀释到 0.1mol/L 和 0.2mol/L。

(2) 器材　布氏漏斗，酸式滴定管，碱式滴定管，精密 pH 试纸（pH2～5），恒温水浴锅。

4. 实验步骤

(1) 柑橘果胶的制备　将鲜橘皮或甜橙皮剪成 0.3cm×1.5cm 的小块，称取 2 份，每份 10.0g（若用橘皮可称 2.0g）。取 50mL 蒸馏水于 100mL 烧杯中，放入橘皮，用 0.2mol/L HCl 调至 pH2.2，加热到 100℃，保温 30min，保温期间不断搅动。保温结束后，用垫有市售棉涤纶布的布氏漏斗抽滤，收集滤液。

将抽滤后的滤渣转入原烧杯内，加入 40mL 蒸馏水，于 100℃下提取 20min，然后过滤，收集滤液；如此再重复一次。合并 3 次提取液，冷却到室温，于搅拌下缓缓加入 pH3.2 的 95%乙醇，乙醇用量为滤液体积的 1.5 倍。在乙醇加入过程中，即可看到絮状果胶物质析出。静置约 0.5h，用 100 目棉涤纶布过滤，即得湿果胶。

(2) 果胶物质含量的测定　用上述方法制备的 2 份湿果胶分别置于 250mL 锥形瓶内，溶于约 50mL 水中。另取两个 250mL 锥形瓶，各装入 50mL 蒸馏水作为对照。

向每个锥形瓶内加入 3 滴中性红指示剂，用 0.1mol/L NaOH 滴定到红色刚刚消失。然后向每个锥形瓶内加入 10mL 0.2mol/L NaOH 溶液，于 30℃下保温 30min。反应结束后，向每个瓶内定量加入 10mL 0.2mol/L HCl，再用 0.1mol/L NaOH 滴定到红色消失，记下消耗的 NaOH 体积。将样品与对照耗碱量的差值定为 v_1，则 v_1 为果胶酸酯皂化反应的耗碱量。

再向每个锥形瓶内加入 50mL 0.1mol/L HCl，于 100℃水浴中保温 15min。反应结束后，取出锥形瓶，用冷水冷却到室温，然后将溶液分别转移到 250mL 容量瓶中，用水定容，混匀，过滤。取 125mL 滤液，置于另外的锥形瓶中，用 0.1mol/L NaOH 滴定到红色消失。记下消耗的 NaOH 体积，将样品中果胶酸钠与盐酸反应的耗酸量定为 v_2，则 $v_2=50-$(样品的耗碱量－对照耗碱量)×2。

5. 实验结果

(1) 计算鲜橘皮中果胶酸酯的含量

$$\text{果胶酸酯含量(g)}=v_1\times10^{-3}\times0.1\times190$$

(2) 计算橘皮中果胶酸的含量

$$果胶酸的含量(g)=v_2\times10^{-3}\times176$$

(3) 计算橘皮中果胶物质的百分含量

$$果胶含量(\%)=(果胶酸酯+果胶酸)/样品质量\times100$$

(4) 计算橘皮中果胶的酯化度

$$酯化度=v_1/v_2\times100$$

6. 注意事项

① 从橘皮中提取果胶时，提取液需准确达到 pH2.2。

② 加入乙醇的目的是为了沉淀出果胶物质，pH 需控制在 3.2。

实验五　蛋白质的定性反应实验

一、实验原理

蛋白质的定性方法大致分为两类：一是沉淀、凝固反应，包括热凝固，有机溶剂引起的沉淀、盐析，重金属引起的沉淀，生物碱试剂引起的沉淀；二是呈色反应，如缩二脲反应、水合茚三酮反应、黄蛋白反应、硫化铅反应、米隆反应等。

二、实验材料与仪器

1. 试剂

硫酸铵饱和溶液，10%硝酸铅溶液，25%氨水，1%硫酸铜溶液，30%氢氧化钠溶液，10%氢氧化钠溶液，5%乙酸溶液，蛋白质溶液，饱和鞣酸溶液，浓硝酸。

2. 器材

试管，烧杯，酒精灯。

三、实验步骤

1. 蛋白质的盐析与溶解

取一支试管加入 1mL 蛋白质溶液，加入 25mL 硫酸铵饱和溶液，观察溶液变浑；再加入 10mL 水，溶液又变清。

2. 蛋白质的变性

取两支试管，各加入 1mL 蛋白质溶液，在第一支试管中加入 2 滴 10%硝酸铅溶液，在第二支试管中加入 2 滴 5%乙酸溶液和数滴饱和鞣酸溶液，观察两支试管变浑；再各加入 10mL 水，溶液不能变清。

3. 缩二脲反应

取一支试管加入 1mL 蛋白质溶液，再加入 1mL10%氢氧化钠溶液，然后加入 2 滴硫酸铜溶液，振荡，应有紫红色，表示存在肽键。

4. 黄蛋白反应

取一支试管加入 1mL 蛋白质溶液，再加入 0.5mL 浓硝酸，首先生成白色沉淀，加热，沉淀颜色变黄；冷却后，加入过量 25%氨水，变为橙色。此反应是由于带苯环结构的氨基酸被硝酸硝化而呈色。

5. 硫化铅反应

取一支试管加入 1mL 蛋白质溶液，再加入 2mL30%氢氧化钠溶液，煮沸 1～2min，首先有沉淀析出，接着溶解并有氨气放出。

取 1mL10%硝酸铅溶液加入上面热的强碱溶液中，如果蛋白质与碱作用有硫脱出时则生

成硫化铅，溶液呈黑色或褐色，此为含硫蛋白质的特殊反应。

四、实验结果

1. 定性实验现象记录。
2. 综合分析产生原因。

实验六　胶体系统实验

一、实验目的

1. 了解胶体系统的性质和类型。
2. 掌握胶粒电荷的测定方法。

二、实验原理

胶体系统介于粗悬浊液和真溶液之间，在胶体系统中分散的粒子非常小以至于不能分为明显的相，但又不是小到可被称为真溶液中的粒子。

在食品中存在的重要胶体系统有溶液、凝胶、乳化液和泡沫体系。溶液和凝胶是固体分散在液体中或液体分散在固体中，乳化液则是一种溶液分散到另一种溶液中。溶胶与凝胶的不同在于它是液体，可被倒出；凝胶则类似固体，又可被看作是某溶胶的特殊沉积，其所含有的两相与其在溶胶状态时具有相同的化学组成和比例，有些凝胶因加热会打破其赖以形成凝固结构的结合力而转变为溶液。泡沫体系则是气体分散在液体中形成的。

所有的胶体分散体系至少由两相组成，胶粒相被称为分散相；另一相是连续的，称为分散介质。在凝胶中每相都认为是连续的，一种胶体如能浸吸大量水分则被认为是亲液的，相反一种胶体不吸水分即为憎液的。

三、实验材料与仪器

1. 试剂

牛奶，5%明胶水体系，0.5mol/L $CuSO_4$ 溶液，0.3mol/L $Fe(OH)_3$ 溶液，肥皂水，饱和 NaCl 溶液，0.1mol/L NaOH 溶液，0.05mol/L $CaCl_2$ 溶液，10%硫代硫酸钠溶液，浓 HCl，粉状明胶，吐温 40，水玻璃（Na_2SiO_3），0.4mol/L 冰乙酸，95%乙醇，饱和乙酸钙，食醋，植物油，蛋黄和蛋清，发酵粉，0.2mol/L NaCl，6.0mol/L NaCl，0.1mol/L Na_2SO_4。

2. 器材

① 暗室，光束产生盒，高倍显微镜，透析袋，加热器。

② 25mL 试管 15 支，150mL、250mL、400mL 烧杯各 4 只，1mL、10mL、50mL 移液管各 1 支，50mL 锥形瓶 3 只。

四、实验步骤

1. 胶体分散系的一般性质

(1) 丁达尔效应　当一细束光通过胶体的溶胶时，将分散为锥形光束，这种现象称为丁达尔效应，此是由于胶体分散相对光的散射作用而引起。比较从一只钻有小孔的内装光源的盒子中射出一光束通过装有下列 20mL 溶液的试管时的现象。

①稀牛奶（1mL 牛奶＋20mL 水）；②0.5mol/L $CuSO_4$ 溶液；③0.5mol/L $CuSO_4$ 溶液＋少许明胶，煮后放冷；④$Fe(OH)_3$ 溶胶（见后）。

(2) 扩散现象　在两支试管中分别加 15mL5%明胶的水分散溶液，加热使变为溶胶，小心地在一支试管中加 5mL $Fe(OH)_3$ 溶胶，而另一支试管中加 5mL $CuSO_4$ 溶液，一星期后观察扩散程度，比较哪一个混合物具有较慢的扩散速度，为什么？

(3) 粒子的相对大小　把 50mL $Fe(OH)_3$ 溶胶装入透析袋，并悬到 400mL 水中；在另一只透析袋中装入 50mL $CuSO_4$ 溶液，放入另一只盛有 400mL 水的容器中，一星期后观察，比较铜离子和 $Fe(OH)_3$ 溶胶粒子哪个大？

(4) 布朗运动　布朗运动是粒子恒定随机的之字形运动，它是胶粒与分散介质的分子随机碰撞的结果。用高倍显微镜观察任意一个胶体系统。

(5) 表面张力　在下面三种体系表面各放一个细金属丝，观察哪个能浮在上表面？是什么力使它浮起？溶质的影响如何？

①蒸馏水；②肥皂水；③饱和 NaCl 溶液。

(6) 电解质对乳化类型的影响　在 3 只标记的 50mL 锥形瓶中分别加 10mL 植物油和 10mL 蒸馏水，再加入下列物质摇动后观察能否形成乳液。

①肥皂水；②饱和 NaCl 溶液；③吐温 40。

2. 胶体系统的类型

(1) 溶胶

① 硫溶胶。在 1 支试管中加 5mL10%硫代硫酸钠溶液，然后加入 1mL 浓 HCl，观察现象。

② 明胶溶胶。在 100mL 沸腾的蒸馏水中加 1g 粉状明胶，彻底搅匀，冷却。

③ 氢氧化铁溶胶。加 5mL 0.3mol/L $Fe(OH)_3$ 溶液到沸腾的蒸馏水中，搅匀，放入冷水中冷却。

比较明胶溶胶和氢氧化铁溶胶的黏度。

(2) 凝胶

① 制备硅胶。在 1 只 500mL 的烧杯中加入 20mL 水玻璃（Na_2SiO_3），另一烧杯中加 10mL 0.4mol/L 冰乙酸和 10mL 蒸馏水，然后混合两烧杯内容物并不断交替倒放直至形成硅胶。依据上述反应，解释为什么水玻璃可用于保存禽蛋。

② 制备固体醇。在 250mL 烧杯中加入 85mL 95%乙醇，另一烧杯中加入 10mL 饱和乙酸钙溶液，两者合并，交替倒放。

(3) 乳化　在两支试管中各加 2mL 食醋和 2mL 植物油，随后在一支试管中加 3 滴蛋黄，混匀后静置，比较每支试管中油和醋重新分离的速度。蛋黄加入乳化液的功能如何？

(4) 起泡　在两支试管中各加 1g 发酵粉，其中 1 支试管加 0.5g 蛋清，然后每支试管中加 10mL 水，静置 3～4min，试分析蛋清对泡沫形成的作用是什么？

3. 胶粒电荷的测定

Schulta-Hardys 定理指出，电解质凝集沉淀一种胶体的能力极大地依赖于与胶体本身荷电相反的离子的价态。应用这一定理就能测定胶粒所带电荷，用正离子价态不同而负离子价态相同的一系列电解质即可判定胶体粒子是否带有负电荷。较低浓度的二价阳离子电解质将比较高浓度的一价阳离子电解质对荷有负电荷的胶粒产生更大的凝聚沉淀作用，而更低浓度的三价阳离子电解质就可产生相同的沉淀作用。需要指出的是，并非所有的离子都会以相同的程度被胶粒吸附，而被胶粒吸附的能力越强，沉淀作用也越强。

① 离子的电荷效应。在下列每支试管中加 5mL 氢氧化铁溶胶：

1 号　留作对照不加其他；

2 号　加 5mL0.2mol/L NaCl；

3 号　加 5mL6mol/L NaCl；

4 号　加 5mL0.1mol/L Na_2SO_4。

观察哪个试管产生了沉淀，并判断氢氧化铁溶胶带有哪种电荷？

② 保护胶体的效应。按下列次序加入试剂：

1 号　加 5mL $Fe(OH)_3$ 溶胶，再加 5mL 0.1mol/L Na_2SO_4；

2 号　加 5mL 明胶溶液，再加 5mL 0.1mol/L Na_2SO_4；

3 号　加 5mL $Fe(OH)_3$ 溶胶，再加 2mL 明胶溶液，再加 2mL 0.1mol/L Na_2SO_4 溶液。

观察哪个试管产生了沉淀，是何种物质起到了保护胶体的作用？

五、实验结果

将胶体分散系、胶体系统类型、胶体电荷三个方面所有定性定量检验质量列表比较并进行汇总分析。

将实验结果填在表 2-5 中。

表 2-5　胶体系统实验结果

项　目	测 定 项 目	现　象
胶体分散系	丁达尔现象	
	扩散现象	
	粒子的相对大小	
	布朗运动	
	表面张力	
	电解质对乳化类型影响	
胶体系统	溶胶	
	凝胶	
	乳化	
	起泡	
胶粒电荷测定		

实验七　影响卵蛋白变性凝结的因素实验

一、实验目的

掌握影响蛋白质变性的因素。

二、实验原理

蛋是一个多蛋白胶体体系，通过对蛋的凝集条件实验，使学生对蛋白质在不同加热、pH、离子强度等条件下变性凝固的原理加深认识。对不同蛋白质变性条件的掌握，是利用不同蛋白质在食品中发挥其功能的一个重要方面。

三、实验材料与仪器

1. 材料

全蛋，蛋清，蛋黄，糖，牛奶，食醋，盐。

2. 器材

400mL 烧杯，250mL 烧杯，温度计，电炉，大试管，25mL 量筒，玻璃棒，10mL 吸管，

天平，小碟。

四、实验步骤

1. 蛋的凝聚温度测定

① 用一只 400mL 烧杯和一只 250mL 烧杯简装一个双层水浴。在 250mL 烧杯中加 125mL 40～45℃的水，在 400mL 烧杯中加入沸水，加入量以当 250mL 烧杯放入后水沸腾时不溢出为准。

② 倒 10mL 鸡蛋于试管中，把试管插入 250mL 烧杯中，放于有石棉网的电炉上加热并计时。

③ 于放入全蛋混合物的试管中插入温度计，轻轻搅动以保持温度均匀上升，记录混合物开始凝聚的温度和时间，注意升温速度要慢（对蛋清来说，为刚变为不透明时；对蛋黄来说，为当温度计抬起时黏在温度计头上的一层膜下流时；对于蛋和奶的混合物来说，刚开始凝聚是指当用温度计将混合物挑到试管壁上后不完全落下时的温度）。

④ 保持相同的慢速升温速度继续加热，观察一个平稳时期的出现（虽然加热，但温度不升高），这就是凝聚点。记录下该现象出现时的温度和持续时间。

⑤ 继续加热直到蛋黄、蛋清都完全凝结，记录此时温度。对于含牛奶的体系，最后还要辅以轻微搅动以使完全凝结，记录整个过程所需的时间。

2. 实验的各组混合物配方

① 10mL 全蛋（打蛋后搅开）；

② 10mL 蛋黄（打蛋后吸蛋黄）；

③ 10mL 蛋清（打蛋后吸蛋清）；

④ A：10g 全蛋＋5g 牛奶混合，吸 10mL。B：4g 全蛋＋10g 牛奶混合，吸 10mL。C：5g 全蛋＋20g 牛奶混合，吸 10mL。

⑤ A：用④C 相同的混合物 10mL＋1.5g 糖，搅动直至溶解后，再于水浴加热。B：与 A 的不同只是要加 3g 糖。

⑥ A：5g 全蛋＋20mL 蒸馏水，吸 10mL（本实验最后加热到 86℃）。B：10g 全蛋＋5mL 蒸馏水，吸 10mL，最后也加热到 86℃。

⑦ 5g 全蛋＋20mL 蒸馏水，取 10mL 混合液，加 1.5g 食盐，然后加热。

⑧ 10g 全蛋＋5mL 食醋，取 10mL 混合液。

五、实验结果

1. 列表比较（表 2-6）。

表 2-6　比较结果

编号	加热总时间	凝结开始时温度	凝结平稳期温度	凝结完成时温度	讨　论
1					
2					
3					
4A					
4B					
4C					
5A					
5B					
6A					
6B					
7					
8					

2. 蛋制品品质的影响

将一只蛋、15mL 去除奶油的牛奶和 0.6g 盐混合，在三支试管中各加 10mL 该混合物，放于注入 2/3 沸水的同一个烧杯中，然后用带石棉网的电炉加热，沿着烧杯轻轻转动几次试管使各部受热均匀。在 1.5min、2.5min 和 4min 各取出一支试管，把试管中煮好的蛋转入碟中观察品尝，结果见表 2-7。

表 2-7 蛋制品观察品尝结果

加热时间	未凝聚或已凝聚	表面光滑或粗糙	嫩或老(硬)	口感湿润或干

六、注意事项

进行蛋的凝聚实验时，升温的速度要缓慢且保持匀速，因此需用双层水浴装置来进行。

实验八 油脂的定性反应实验

一、实验目的

1. 掌握油脂的定性反应实验方法。
2. 了解油脂抽提的简单方法。

二、实验原理

食用油脂几乎都是甘油三酯的混合物。本实验从食品的观点出发，重点介绍有关甘油三酯的定性反应，实验样品为油脂。但对于食品中含有的油脂，则必须将其从食品中抽出。油脂抽提的方法很多（根据食品的种类选择），本实验介绍一种最简单的方法。

三、实验材料与仪器

1. 试剂

乙醚，乙醇，pH 试纸，1%间苯三酚乙醇溶液，浓盐酸，碘化钾饱和溶液，淀粉溶液，氢氧化钠饱和溶液。

2. 器材

试管，水浴锅，蒸发皿，锥形瓶，漏斗。

四、实验步骤

1. 抽提含在食品中的油脂

取方便面 5～10g（或花生米数粒），捣碎成粉末状，置于锥形瓶中，加入约 5 倍量的乙醚，振荡抽提数分钟，上清液用干燥滤纸过滤，蒸馏除去溶剂，残留的油分用作供试样品油（若乙醚含过氧化物，应经蒸馏处理）。

2. 油脂的酸性试验

取少量油脂于试管内，用 pH 试纸检验其酸性程度。不新鲜的陈油脂呈酸性。不易观察的场合或固体油脂，可将少量样品溶解于 5mL 乙醇内，观察 pH 试纸变色情况。

3. 醛的检出

取约 2g 油脂于试管内，加入 1%间苯三酚乙醇溶液 2mL 和浓盐酸，充分振荡。当有醛存在时，下层盐酸层呈橙黄色。

4. 过氧化物检出

取少量油脂于试管内，加入稍多于油脂的碘化钾饱和溶液，再加入少量淀粉溶液，充分摇匀。当有过氧化物存在时，发生碘代反应而呈紫红色（偏红），表明油脂处于变质过程中。

5. 油脂的皂化试验

取牛油约 2g 于蒸发皿内，加氢氧化钠饱和溶液约 10mL 和少量乙醇，在热水浴上加温，不久开始起泡，经 15min 皂化。用玻璃棒取极少量，加入温热蒸馏水内，若溶解成透明状表示皂化已完成。冷却后液体分为两层，上层半固体态为肥皂与氢氧化钠的混合物，下层为甘油与氢氧化钠的混合物。下层甘油可用硫酸铜检出。

五、实验结果

1. 列表分析现象。

2. 综合比较，汇总分析。

实验九　影响酶促反应的因素实验

一、实验目的

掌握影响酶促反应的条件和因素。

二、实验原理

唾液与淀粉共同保温后，淀粉被唾液淀粉酶水解。然后加入碘液，若呈蓝色，表明较多的淀粉未被水解（淀粉遇碘呈蓝色）；如呈现紫红色，表明淀粉已被水解成中间产物——糊精；如呈黄色（碘本身颜色），表明淀粉基本上水解为麦芽糖及葡萄糖。也可用大麦芽淀粉酶代替唾液淀粉酶。

三、实验材料与仪器

1. 试剂

（1）1%淀粉溶液

（2）pH6.8 磷酸盐缓冲液　取 1/15mol/L 磷酸二氢钠 50.4mL 与 1/15mol/L 磷酸氢二钠 49.6mL 混合即成。

（3）pH3.0 磷酸盐缓冲液　取 0.2mol/L 磷酸氢二钠 49.6mL、0.2mol/L 磷酸二氢钾 50mL，加 0.2mol/L HCl 20.3mL。

（4）pH9.0 磷酸盐缓冲液　取 0.2mol/L 磷酸氢二钠 60mL，加 0.2mol/L NaOH 2mL。

（5）0.3%稀碘溶液　内加少量碘化钾。

（6）1%氯化钠溶液

（7）1%硫酸铜溶液

（8）稀释唾液的制备　用水漱口，然后含一口蒸馏水 1～2min 后，吐入烧杯中备用。

2. 器材

沸水浴锅，恒温水浴锅（37℃）。

四、实验步骤与结果分析

1. 温度对唾液淀粉酶作用的影响

按表 2-8 加入各种试剂。

表 2-8　温度对酶作用的影响实验

管　　号	1	2	3
1%淀粉溶液/滴	10	10	10
pH6.8 磷酸盐缓冲液/滴	10	10	10
稀释唾液/滴	10	10	10
不同温度/℃	0	37	100
各管在上述温度下，放置 10min 后取出			
稀碘溶液/滴	1	1	1
结果(哪管反应最快)			

2. pH 对唾液淀粉酶作用的影响

按表 2-9 加入各种试剂。

表 2-9　pH 对酶作用的影响实验

管　　号	1	2	3
1%淀粉溶液/滴	10	10	10
pH3.0 磷酸盐缓冲液/滴	20	—	—
pH6.8 磷酸盐缓冲液/滴	—	20	—
pH9.0 磷酸盐缓冲液/滴	—	—	20
摇匀，各管置于 37℃水浴中保温 5min			
稀释唾液/滴	5	5	5
摇匀，继续保温 10min 后取出			
稀碘溶液/滴	1	1	1
结果(哪管反应最快)			

3. 激活剂与抑制剂对唾液淀粉酶的影响

按表 2-10 加入各种试剂。

表 2-10　激活剂与抑制剂对酶作用的影响实验

管　　号	1	2	3
1%淀粉溶液/滴	10	10	10
pH6.8 磷酸盐缓冲液/滴	10	10	10
1%氯化钠/滴	—	10	—
1%硫酸铜/滴	—	—	10
蒸馏水/滴	10	—	—
稀释唾液/滴	5	5	5
摇匀，37℃水浴中保温 10min 后			
稀碘溶液/滴	1	1	1
结果(三管颜色有何不同)			

五、注意事项

淀粉酶的配制需现用现配，本法现场用口含蒸馏水的方法制取，口含蒸馏水需保持 2min 左右。

实验十　植物色素提取与性质实验

一、实验目的

1. 掌握植物色素的性质及其提取方法。
2. 了解影响植物色素变化的因素。

二、实验原理

水果和蔬菜受人喜爱的原因之一是它们具有明快诱人的颜色。植物色素包括三大类，即叶绿素、类胡萝卜素及类黄酮。类黄酮又可分为花青素、黄酮、黄酮醇及无色花青素，它们都是多酚化合物，为水溶性色素，存在于细胞汁中。类胡萝卜素和叶绿素都是脂溶性色素，它们分别存在于有色体和叶绿体中。

如果在果蔬加工和贮藏中处理不当，植物色素将发生变化，结果水果、蔬菜失色或变色，降低产品的价值。本实验将研究植物色素的性质以及影响它们变化的因素。

三、实验材料与仪器

1. 样品

菠菜，花椰菜，绿色快餐豆，红甘蓝，胡萝卜，红薯，花茎甘蓝，白马铃薯各 100g。

2. 试剂

① 0.03mol/L $FeCl_3$、0.05mol/L $CuSO_4$、0.05mol/L $MgSO_4$ 和 0.05mol/L $SnCl_2$：四种试剂的固体称量值分别为 0.27g、0.4g、0.3g 和 0.47g，皆定容为 50mL。

② 标准 pH 溶液（pH 分别为 3、5、7、9）。

3. 器材

家用匀浆器，手持 pH 计，水浴锅等。

四、实验步骤

1. 提取色素

菠菜、花茎甘蓝、青豆、胡萝卜和红薯各 100g，分别放入不同的家用匀浆器中（如仪器少则一个样品一个样品提取），各加 80mL 丙酮和 20mL 蒸馏水，匀浆（约 2min），将匀浆过滤，滤液收入 150mL 烧杯中，弃去残渣。

红甘蓝、花椰菜和白马铃薯各 100g，分别放入不同的匀浆器中，各加 100mL 水，匀浆后过滤，滤液收入 150mL 烧杯中，弃去残渣。

2. pH 和温度的影响

分别将 10mL pH 值分别为 3、5、7、9 的标准缓冲溶液加入四支大试管中。用滴管取一种水果或蔬菜的色素提取液滴入 pH3 的试管中，边滴边摇，当试管中溶液变色时，记录共加了多少滴提取液。然后，在 pH 值分别为 5、7、9 三支试管中各加入相同滴数（pH3 试管中加入的滴数）的该提取液，摇匀后观察剩余原提取液和这四支试管中溶液的颜色，并作记录。然后将四支试管放入沸水浴中 10min，取出后再次观察它们的颜色，记录下来。

该实验一次针对一种水果或蔬菜提取液来做，做完后再做其他样品。

3. 金属和温度的影响

分别将 2mL 实验试剂中的 $FeCl_3$、$CuSO_4$、$MgSO_4$ 和 $SnCl_2$ 溶液加入带标记的大试管中，然后取一种水果或蔬菜的色素提取液，分别向四支试管中各加 10mL，摇匀后观察原提取液和

四支试管中溶液的颜色，记录下来。然后，将四支试管的溶液分别转入四个标记了的 250mL 烧瓶中，再向各烧瓶补充 100mL 水。接着，把四个烧瓶放入沸水中 10min，取出后观察并记录烧瓶中溶液的颜色。

做完一种样品的试验后，依次再做其他样品，直到 8 种样品做完。

4. 测定水果、蔬菜汁的 pH 值

将 8 种实验材料分别在匀浆机上不加水的条件下匀浆，用纱布包裹匀浆，挤出汁液到 8 个小烧杯中，分别用手持 pH 计测定 pH 值。

五、实验结果

将所有实验数据填入表 2-11 和表 2-12，然后进行分析与讨论。

表 2-11　pH 值和温度对植物色素的影响

材料		原提取液颜色	加液滴数	不同 pH 值下植物色素的颜色							
名称	pH			未加热				加热后			
				3	5	7	9	3	5	7	9

表 2-12　金属和温度对植物色素的影响

材料		原提取液颜色	加液滴数	不同金属存在下植物色素的颜色							
名称	pH			未加热				加热后			
				$FeCl_3$	$CuSO_4$	$MgSO_4$	$SnCl_2$	$FeCl_3$	$CuSO_4$	$MgSO_4$	$SnCl_2$

六、注意事项

本法因所用样品较多，因此需注意彼此之间不能交叉污染。一次操作须针对一种水果或蔬菜提取液来做，做完后再做其他样品。

实验十一　美拉德反应初始阶段的测定

一、实验目的

1. 掌握美拉德反应初始阶段的测定内容和方法。
2. 了解影响美拉德反应的因素。

二、实验原理

美拉德反应即蛋白质、氨基酸或胺与碳水化合物之间的相互作用。美拉德起始反应以无紫外吸收的无色溶液为特征，且还原力增强。随着反应不断进行，溶液变成黄色，在近紫外区吸收增大，同时还有少量糖脱水变成 5-羟甲基糠醛（HMF），以及发生键断裂形成二羰基化合物和色素的初产物，最后生成类黑精色素。本实验利用模拟实验，即葡萄糖与赖氨酸在一定 pH 缓冲液中加热反应，一定时间后测定 HMF 的含量与 285nm 处紫外吸光度值。

HMF 的测定方法是根据对氨基甲苯和巴比妥酸在酸性条件下的呈色反应。此反应常温下

生成最大吸收波长为550nm的紫红色物质，因不受糖的影响，所以可以直接测定。这种呈色物对光、氧气不稳定，操作时要注意。

三、实验材料与仪器

1. 试剂

(1) 巴比妥酸溶液　称取巴比妥酸500mg，加约70mL水，在水浴上加热使其溶解，冷却后移入100mL容量瓶中，定容。

(2) 对氨基甲苯溶液　称取对氨基甲苯10.0g，加50mL异丙醇，在水浴上慢慢加热使之溶解，冷却后移入100mL容量瓶中，加冰乙酸10mL，然后用异丙醇定容。溶液置于暗处保存24h后使用。保存4～5d后，如呈色度增加，应重配。

(3) 1.0mol/L葡萄糖溶液

(4) 0.1mol/L赖氨酸溶液

2. 器材

分光光度计，恒温水浴锅，试管等。

四、实验步骤

① 取5支试管，分别加入5mL1.0mol/L葡萄糖溶液和5mL 0.1mol/L赖氨酸溶液，编号为A_1、A_2、A_3、A_4、A_5。A_2、A_4调pH到9.0，A_5加亚硫酸溶液。5支试管置于90℃水浴锅中并计时，反应1h，取出A_1、A_2、A_5管，冷却后测定它们在285nm处的紫外吸收和HMF值。

② HMF的测定。A_1、A_2、A_5各取2.0mL于三支试管中，加对氨基甲苯溶液5mL，然后分别加入巴比妥酸溶液1mL；另取一试管加A_1液2mL和5mL对氨基甲苯溶液，但不加巴比妥酸溶液而加1mL水，将试管充分振摇。试剂的添加要连续进行，在1～2min内加完。以加水的试管为对照，测定在550nm处的吸光度值，通过吸光度比较A_1、A_2、A_5中HMF的含量可看出美拉德反应与哪些因素有关。

③ A_3、A_4两支试管继续加热反应，直到看到有深颜色出现为止，记下出现颜色的时间。

五、实验结果

要求列举统计表进行分析与讨论。

六、注意事项

HMF显色后会很快褪色，比色时一定要快。

实验十二　溶液的味觉实验

一、实验目的

1. 学习鉴别基本味的方法。
2. 了解各种因素对基本味的影响作用。

二、实验原理

四种基本的滋味是苦、酸、咸、甜，然而绝大多数呈味物质提供味感时必须预先溶解于水中。本实验可熟悉味的相互影响及锻炼鉴别力。

每个学生必须独立做实验的第二部分：在每一实验台上放 15 个小烧杯，分别记作 A_1、A_2、A_3、A_4、B_1、B_2、C_1、C_2、C_3、D_1、D_2、E_1、E_2、F_1 和 F_2，在每个小烧杯中放入大约 2mL 适当的溶液。把约一半的每种溶液分别喝入口中几秒后再咽下。如认为有必要，可尝更多一点，尝完 A 系列后再尝 B 系列，依此类推。每尝一杯后用清水漱口，按杯记录下尝味结果。

三、实验材料与仪器

1. 样品

面粉，砂糖。

2. 试剂

苯基硫脲，柠檬酸，NaCl，蔗糖。

3. 器材

烧杯，量筒，天平，小锅，电炉等。

四、实验步骤与结果分析

1. 溶液的味道

（1）鉴别基本味　溶液 A_1、A_2、A_3、A_4 分别含苯基硫脲、柠檬酸、NaCl 和蔗糖，其百分含量（%）分别为 0.00023、0.01、0.15 和 0.5。尝完后填表 2-13。

表 2-13　基本味鉴别结果

项　目	苦	酸	咸	甜	不能鉴出
杯的标记					
你的味感					

（2）酸对甜感的影响　溶液 B_1 和 B_2 分别含有 50g 蔗糖和 50g 蔗糖中加了 0.3g 柠檬酸，并用水稀释到 1L。尝完后填表 2-14。

表 2-14　酸对甜感的影响记录

项　目	不甜	不怎么甜	无区别
杯的标记			
你的味感			

请回答酸对甜味感觉的影响如何？

（3）盐对甜感的影响　溶液 C_1、C_2 和 C_3 分别含有 50%蔗糖、70%蔗糖和 50%蔗糖，后两种分别各加 0.5g NaCl，总体积分别为 1L。尝完后填表 2-15。

表 2-15　盐对甜感的影响记录

项　目	特甜	较甜	无区别
杯的标记			
你的味感			

请回答 NaCl 对甜味的影响如何？

（4）糖对咸味的影响　溶液 D_1 和 D_2 分别含有 4.5gNaCl 和 4.5gNaCl 加 10g 蔗糖，各溶解到 1L。尝完后填表 2-16。

表 2-16　糖对咸味的影响记录

项　目	不怎么咸	较咸	无区别
杯的标记			
你的味感			

请回答糖对咸味的影响如何？

（5）糖对酸味的影响　溶液 E_1 和 E_2 分别含有 2g 柠檬酸和 2g 柠檬酸加 1g 蔗糖，各加水到 1L。尝完后填表 2-17。

表 2-17　糖对酸味的影响记录

项　目	不怎么酸	较酸	无区别
杯的标记			
你的味感			

请回答糖对酸味的影响如何？

（6）糖对苦味的影响　溶液 F_1 和 F_2 各含 0.002g 苯基硫脲和 0.002g 苯基硫脲加 15g 蔗糖，各加水到 1L。尝完后填表 2-18。

表 2-18　糖对苦味的影响记录

项　目	不太苦	较苦	又苦又甜	甜	与苦味无区别
杯的标记					
你的味感					

请回答糖对苦味的影响如何？

2. 焦糖化对糖甜味的影响

加 40g 砂糖到一只小锅中，慢慢加热并不断搅动使之焦糖化到 B（轻微琥珀色）；另取一份加热使之焦糖化到 C（暗褐色）。小心地各加入 60mL 热水，搅拌并轻微加热以溶解焦糖，冷却到室温。然后再配一份砂糖溶液，分别尝味并填写表 2-19。

表 2-19　焦糖化对糖甜味的影响记录

项　目	甜	苦
未加热的糖液		
琥珀色的糖液		
暗褐色的糖液		

3. 糊精化对面粉的影响

分别加 30g 面粉到两只锅中，慢慢加热直到其糊精化到 B（中等程度的褐色）或 C（暗褐色）；冷却后各加 30mL 冷水，调成软面糊后再用冷水稀释到 300mL，冷却到室温，尝后填表 2-20。

表 2-20　糊精化对面粉的影响记录

项　目	溶解性	颜色	甜	苦
未糊精化的面粉				
中等褐色的面粉				
暗褐色的面粉				

五、注意事项

1. 本法所用的试剂、玻璃器材等均需清洁、干净，不得对实验者造成影响。
2. 焦糖化和糊精化时，要缓慢小火加热。

第三章　物理化学实验指导

实验一　高聚物的相对分子质量测定（黏度法）

一、实验目的

1. 测定聚乙烯醇的相对分子质量。
2. 掌握用乌贝路德（Ubbelohde）黏度计测定高聚物分子量的基本原理。

二、实验原理

分子量是表征化合物特性的基本参数之一。但高聚物分子量大小不一，参差不齐，一般在$10^3 \sim 10^7$之间，所以通常所测高聚物的分子量是平均分子量。测定高聚物分子量的方法很多，对线型高聚物，各方法适用的范围如表 3-1 所示。

表 3-1　测定高聚物相对分子质量相应的分析方法

分析测定方法	高聚物相对分子质量(M_r)	分析测定方法	高聚物相对分子质量(M_r)
端基分析	$<3\times10^4$	光散射	$10^4 \sim 10^7$
沸点升高，凝固点降低，等温蒸馏	$<3\times10^4$	超离心沉降及扩散	$10^4 \sim 10^7$
渗透压	$10^4 \sim 10^6$	黏度法	$10^4 \sim 10^7$

获得特性黏度 $[\eta]$ 的方法有两种：一种是以增比黏度 η_{sp}/c 对 c 作图，外推到 $c\to0$ 的截距值；另一种是以 $\ln\eta_r$（相对黏度）$/c$ 对 c 作图，也外推到 $c\to0$ 的截距值，如图 3-1 所示，两条线应会合于一点，这也可校核实验的可靠性。一般这两条直线的方程表达式为下列形式：

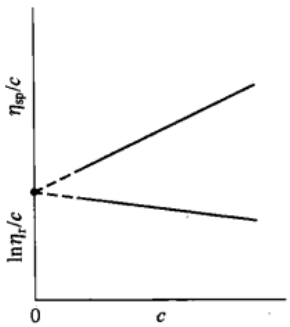


图 3-1　外推法求 $[\eta]$

$$\frac{\eta_{sp}}{c}=[\eta]+K'[\eta]^2c \tag{3-1}$$

$$\frac{\ln\eta_r}{c}=[\eta]+\beta[\eta]^2c \tag{3-2}$$

高聚物分子的分子量越大，它与溶剂间的接触表面也越大，摩擦就大，表现出的特性黏度也大。特性黏度 $[\eta]$ 和分子量之间的经验关系式为：

$$[\eta]=K\overline{M}^{\alpha} \tag{3-3}$$

式中，$\overline{M}$ 为相对平均分子量；K 为比例常数；α 是与分子形状有关的经验参数。K 和 α 值与温度、聚合物、溶剂性质有关，也和分子量大小有关。K 值受温度的影响较明显，而 α 值主要取决于高分子线团在某温度下、某溶剂中舒展的程度，其数值介于 0.5～1 之间。K 与 α 的数值可通过其他方法确定，例如渗透压法、光散射法等，从黏度法只能测定得 $[\eta]$。

η_r 写成：

$$\eta_r=\frac{\eta}{\eta_0}=\frac{t}{t_0} \tag{3-4}$$

式中，t 为溶液的流出时间；t_0 为纯溶剂的流出时间。所以通过溶剂和溶液在毛细管中的流出时间，从式(3-4) 求得 η_r，再由图 3-1 求得 $[\eta]$。

三、实验材料与仪器

1. 实验材料

恒温槽1套，容量瓶（50mL）1个，锥形瓶（100mL）2个，移液管（10mL）2只，烧杯（50mL）1个，移液管（5mL）1只，螺旋夹1只，秒表1只，橡皮管（约5cm长）2根，洗耳球1只。

2. 实验仪器

乌贝路德黏度计（图3-2）。

3. 试剂

4g/1000mL聚乙烯醇1000mL。

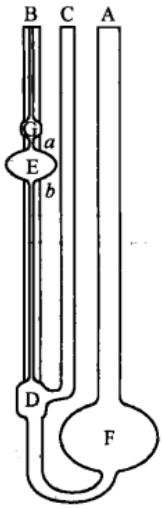


图3-2 乌贝路德黏度计

四、实验步骤

1. 恒温

将恒温槽温度控制在（30±0.2)℃，测定恒温槽的灵敏度。

2. 黏度计清洗烘干

先用洗液将黏度计洗净，再用自来水、蒸馏水分别冲洗几次，每次都要注意反复流洗毛细管部分，洗好后烘干备用。

3. 黏度计连接

在黏度计的B管和C管上都套上橡皮管，然后将其垂直放入恒温槽，使水面完全浸没G球。

4. 溶液流出时间测定

用移液管分别吸取已知浓度的聚乙烯醇溶液10mL，由A管注入黏度计中，恒温5min，进行测定，测定方法如下所述。

将C管用夹子夹紧使之不通气，在B管用洗耳球将溶液从F球经D球、毛细管、E球抽至G球中部，解去C管的夹子，使空气进入D球，同时移开洗耳球，此时G球液面逐渐下降，当液面流经a刻度时，立即开始计时，当液面降至b刻度时，再按停表，测得刻度a、b之间的液体流经毛细管所需时间。重复这一操作至少三次，它们之间相差不大于0.3s，取三次的平均值为t_1。

然后依次由A管用移液管加入3mL、5mL、10mL、15mL蒸馏水，将溶液稀释，使溶液浓度分别为c_2、c_3、c_4、c_5，用洗耳球将溶液吸至G球，再使溶液流下，反复进行三次，使溶液混合均匀并恒温15min后，用同法测定每份溶液流经毛细管的时间t_2、t_3、t_4、t_5。

5. 蒸馏水流出时间测定

倒出黏度计中的溶液，先用自来水冲洗黏度计多次，最后用蒸馏水洗净黏度计，清洗时可借助洗耳球使水每次都流过毛细管进行清洗。然后由A管加入约20mL蒸馏水，用同法测定溶剂流出的时间t_0。

实验完毕后，倒出蒸馏水，将黏度计放入烘箱干燥，关闭恒温槽电源。

五、实验结果

1. 将所测的实验数据及计算结果填入表3-2中。

表3-2 实验结果记录

$c/(g/cm^3)$	t_1/s	t_2/s	t_3/s	$t_{平均}$	η_r	$\ln\eta_r$	η_{sp}	η_{sp}/c	$\ln\eta_r/c$
c_1									
c_2									
c_3									
c_4									
c_5									

注：原始溶液浓度c_0=　(g/cm³)，恒温温度=　℃。

2. 作 η_{sp}/c-c 及 $\ln\eta_r/c$-c 图，并外推到 $c\to0$ 由截距求出 $[\eta]$。

3. 将 $[\eta]$ 代入公式(3-3)，计算聚乙烯醇的相对分子质量。聚乙烯醇水溶液在不同温度时的 K 和 α 值（溶液浓度以 g/mL 为单位）相关参数见表 3-3。

表 3-3 聚乙烯醇水溶液在不同温度时的 K 和 α 值（溶液浓度以 g/mL 为单位）相关参数

温度/℃	K	α
25	2×10^{-2}	0.76
30	6.66×10^{-2}	0.64

六、注意事项

1. 黏度计必须洁净，高聚物溶液中若有絮状物则不能将它移入黏度计中。

2. 本实验溶液的稀释是直接在黏度计中进行的，因此每加入一次溶剂进行稀释时必须混合均匀，并抽洗 E 球和 G 球。

3. 实验过程中恒温槽的温度要恒定，溶液每次稀释恒温后才能测量。

4. 黏度计要垂直放置。实验过程中不要振动黏度计。

七、思考题

1. 乌贝路德黏度计中支管 C 有何作用？除去支管 C 是否可测定黏度？

2. 黏度计的毛细管太粗或太细有什么缺点？

3. 为什么用 $[\eta]$ 来求算高聚物的分子量？它和纯溶剂黏度有无区别？

4. 乌贝路德黏度计为什么一定要垂直？

实验二 萘在硫酸铵水溶液中的活度系数测定（紫外分光光度法）

一、实验目的

1. 了解非电解质在盐水溶液中活度系数的测定方法。

2. 掌握全波长扫描紫外可见分光光度计的使用方法。

二、实验原理

萘的水溶液符合比耳-朗伯定律。用三个不同波长（$\lambda=267$nm、275nm、283nm）的光，测定不同相对浓度的萘溶液的光密度，以光密度对萘的相对浓度作图，得到三条通过零点的直线。

$$A_0=K'c_0L \tag{3-5}$$

式中，A_0 为萘在纯水中的光密度；c_0 为萘在纯水中的溶液浓度；K'为消光系数；L 为溶液的厚度。

对于萘的盐溶液，用同样的波长进行测定。

萘在水溶液和盐溶液中，都是在 $\lambda=267$nm、275nm、283nm 处出现三个峰，吸收光谱几乎相符。盐（硫酸铵）的存在并不影响萘的吸收光谱，两种溶液中的消光系数是相同的。

$$A=K'cL \tag{3-6}$$

式中，A 为萘在盐水溶液中的光密度；c 为萘在盐水中的浓度。

Setschenon 提出盐效应经验公式为：

$$\lg\frac{c_0}{c}=Kc_S \tag{3-7}$$

式中，K 为盐析常数；c_S 为盐的浓度，mol/dm³。

$$\lg \frac{r}{r_0}=\lg \frac{c_0}{c}=Kc_S \tag{3-8}$$

式中，r，r_0 为活度系数。

通过测定萘水溶液的光密度与萘盐水溶液的光密度就可以求出活度系数比。

本实验是用不同浓度的硫酸铵盐溶液测定萘在盐溶液中的活度系数，了解萘在水中溶解度随硫酸铵的浓度增加而下降，硫酸铵对萘起盐析作用。

三、实验材料与仪器

1. 仪器

全波长扫描紫外可见分光光度计 1 台。

2. 实验材料

容量瓶 50mL 6 只、25mL 3 只，锥形瓶 25mL 6 只，刻度移液管 25mL 1 支。

3. 试剂

萘（A. R.），硫酸铵（A. R.）。

四、实验步骤

1. 在 25℃下制备萘在纯水中饱和溶液 100mL，取三只 25mL 容量瓶，分别配制相对浓度为 0.75、0.5、0.25 的三个不同浓度的萘水溶液。

2. 6 个 50mL 的容量瓶配制硫酸铵溶液 1.2mol/L、1.0mol/L、0.8mol/L、0.6mol/L、0.4mol/L、0.2mol/L，每份溶液倒出一半至 25mL 锥形瓶中，加入萘使成为相应盐溶液浓度的饱和萘水溶液。

3. 用 5mL 饱和萘水溶液与 1mol/L 硫酸铵溶液混合，用 5mL（1mol/L）硫酸铵溶液为参比液，测定 λ=260～290nm 间萘的吸收光谱。

4. 用 λ=267nm、275nm、283nm 的光测定不同相对浓度的萘水溶液的光密度，以水作为参比液。

5. 同浓度的硫酸铵水溶液作为参比液，在 λ=267nm、275nm、283nm 波长处分别测定不同浓度的饱和萘-硫酸铵水溶液的光密度。

五、实验结果

1. 根据所得不同浓度萘水溶液的光密度值对萘液的相对浓度作图，得三条通过零点的直线，求出消光系数。

2. 根据测得不同浓度的硫酸铵饱和萘溶液的光密度计算出活度系数 γ 值，以 lgγ 对硫酸铵溶液的相应浓度作图呈直线关系。

3. 求出极限盐效应常数。

六、注意事项

1. 本实验所用试剂萘和硫酸铵纯度要求较高，可以通过结晶处理提高试剂纯度，满足实验需要。

2. 水饱和溶液和萘的盐水饱和溶液的饱和度一定要充分，可以通过振荡器，使其充分饱和。

七、思考题

1. 为什么要测定 λ=260～290nm 的萘水溶液及萘盐水溶液的吸收光谱？

2. 影响本实验的因素有哪些？

实验三　蔗糖转化反应的速率常数测定（旋光法）

一、实验目的

1. 测定蔗糖转化反应的速率常数和半衰期。
2. 了解旋光仪的基本原理，掌握旋光仪的使用方法。

二、实验原理

1. 蔗糖转化的反应式为

$$\underset{\text{蔗糖}}{C_{12}H_{22}O_{11}}+H_2O \xrightarrow{H^+} \underset{\text{葡萄糖}}{C_6H_{12}O_6}+\underset{\text{果糖}}{C_6H_{12}O_6}$$

在纯水中此反应的速度极慢，通常需要在 H^+ 催化下进行，该反应为二级反应。但是由于水是大量存在的，尽管有部分水分子参加了反应，但仍可认为在反应过程中水的浓度是恒定的，而 H^+ 起催化作用，其浓度也保持不变。因此，蔗糖转化反应可看作是一级反应。

$$-dc/dt=kc \tag{3-9}$$

积分可得：

$$\ln c=-kt+\ln c_0 \tag{3-10}$$

式中，c 为反应时间为 t 时的反应物浓度；c_0 为反应物起始浓度；t 为反应时间；k 为反应速率常数，时间$^{-1}$。

若要直接测量不同时刻的反应物浓度非常困难，但蔗糖及其转化产物都有旋光性，而且旋光能力不同，故可以利用系统在反应过程中旋光度的变化来度量反应的进程。

2. 测量旋光性所用的仪器称为旋光仪。溶液的旋光度与溶液中所含旋光物质的旋光能力、溶剂性质、溶液的浓度、样品管长度、光源及温度等均有关系。当其他条件固定时，旋光度与反应物浓度呈线性关系，即

$$\alpha=Kc \tag{3-11}$$

式中，K 为比例系数，与旋光物质的本性有关。

当时间为 t 时，蔗糖的浓度为 c_t，旋光度为 α_t。

则

$$\alpha_t=K_{反}c_t+K_{产}(c_0-c_t) \tag{3-12}$$

由式(3-12) 得

$$c_0=(\alpha_0-\alpha_\infty)/(K_{反}-K_{产})=K'(\alpha_0-\alpha_\infty) \tag{3-13}$$

$$c_t=(\alpha_t-\alpha_\infty)/(K_{反}-K_{产})=K'(\alpha_t-\alpha_\infty) \tag{3-14}$$

可见，以反应开始时与终了时旋光度之差代表蔗糖的起始浓度，而以时间为 t 时与终了时的旋光度之差代表蔗糖在 t 时的浓度，代入式(3-10) 得

$$\ln(\alpha_t-\alpha_\infty)=-kt+\ln(\alpha_0-\alpha_\infty) \tag{3-15}$$

若以 $\ln(\alpha_t-\alpha_\infty)$ 对 t 作图为一直线，从直线斜率可求出反应速率常数 k。对于一级反应，因速率常数与反应物起始浓度无关，反应速率常数的测定可以从任一时刻开始。

三、实验材料与仪器

1. 仪器

自动旋光仪 WZZ 型 1 台，100mL 烧杯 2 个。

2. 材料

50mL 量筒 2 个，滤纸，水浴锅 1 个，移液管 25mL 3 支，锥形瓶 100mL 3 个，秒表 1 个，普通温度计 1 支，镜头纸。

3. 试剂

蔗糖溶液 20%（质量分数）50mL，如有浑浊应过滤；HCl 溶液（4mol/L）5mL，蒸馏水。

四、实验步骤

1. 蔗糖溶液的配制

在 100mL 烧杯内，称取 6g 蔗糖，用量筒加入 30mL 蒸馏水，搅拌使蔗糖完全溶解，若溶液浑浊，则过滤。

2. 旋光仪的零点校正

洗净样品管后向管内加蒸馏水至满（管端液面为凸面）并使管内气泡存在，用滤纸将管外的水擦干，用镜头纸小心将样品管两端的玻璃片擦干净，放入旋光仪的光路中。打开“电源”（应在实验开始时提前打开预热）、“光源”及“测量”开关，调节“调零”手柄至刻度盘的旋光值为零。

3. 反应速率常数的测定

用移液管移取 25mL 蔗糖溶液注入干燥的 100mL 锥形瓶中，用移液管移取 25mL 浓度为 4mol/L 的 HCl 溶液加入蔗糖溶液中，（注意摇动锥形瓶），并迅速以此混合液荡洗盛液管 2 次，然后装满盛液管，揩去管外的溶液，将盛液管安置在旋光仪的暗室中，开始测定旋光度。以开始时刻为 t_0，每隔 2min 读数 1 次，20min 后每隔 3min 读数 1 次，直至旋光度到 $-2°$ 为止。

关闭电源，将剩余反应液置于 50～55℃的恒温水浴中恒温 40min，使其加速反应至完全（水浴温度不要超过 60℃，否则会产生副反应，使反应液变黄），然后取出冷至室温，测得旋光度，观察读数是否稳定，若读数稳定，所测旋光度即为 α_∞，测三次。

五、实验结果

1. 实验结果记录见表 3-4。

表 3-4　数据记录表

t/min											
α_t											

2. 用上表数据作出 α_t-t 图。

3. 从 α_t-t 曲线上，等时间间隔取 8～10 组数据，计算 $\ln(\alpha_t-\alpha_\infty)$，并列出表 3-5，根据表中数据作 $\ln(\alpha_t-\alpha_\infty)$-$t$ 图，由直线斜率求出反应速率常数和半衰期。

表 3-5　由曲线上所得数据记录表

t/min											
α_t											
$\ln(\alpha_t-\alpha_\infty)$											

六、注意事项

1. 反应液酸度很大，一定要将盛液管擦净后再放入旋光仪暗箱内，以免腐蚀仪器。实验

结束后，将盛液管洗净。

2. 每隔 20min 记 1 次室温，取平均值作为测量温度，并在不读数时打开暗箱散热，读数前 0.5min 盖上。

3. 自动旋光仪的读数连续变化，必须迅速读出读数。

4. 自动旋光仪的钠灯不宜长时间开启，否则易损坏，或使旋光仪的温度过高，致使反应液温度升高，影响测量结果的准确性。

七、思考题

1. 本实验是否需要校正仪器零点？为什么？

2. 在混合蔗糖和 HCl 溶液时，总是把 HCl 溶液加到蔗糖溶液中，而不把蔗糖溶液加入 HCl 溶液中，原因是什么？

3. 如果所用蔗糖不纯，对实验有什么影响？

第四章　食品工程原理实验指导

实验一　恒压过滤常数测定实验

一、实验目的

1. 熟悉板框压滤机的构造和操作方法。
2. 通过恒压过滤实验，验证过滤基本理论。
3. 掌握测定过滤常数 K、q_e、τ_e 及压缩性指数 s 的方法。
4. 了解过滤压力对过滤速率的影响。

二、实验原理

过滤速度（u）：单位时间单位过滤面积内通过过滤介质的滤液量。影响 u 的主要因素：过滤推动力（压力差）Δp、滤饼厚度 L、滤饼和悬浮液的性质、悬浮液温度、过滤介质的阻力等。

u 的公式：由于悬浮液通过滤渣和多孔介质的流动属于层流流动，所以，可利用流体通过固定床压降的简化模型，寻求滤液量与时间的关系，由此推导得到过滤速度计算式：

$$u=\frac{\mathrm{d}V}{A\,\mathrm{d}\tau}=\frac{\mathrm{d}q}{\mathrm{d}\tau}=\frac{A\Delta p^{(1-s)}}{\mu r C(V+V_e)} \tag{4-1}$$

式中　u——过滤速度，m/s；

V——通过过滤介质的滤液量，m^3；

A——过滤面积，m^2；

τ——过滤时间，s；

q——通过单位面积过滤介质的滤液量，m^3/m^2；

Δp——过滤压力差，Pa；

s——滤饼压缩性指数，无量纲；

μ——滤液的黏度，Pa·s；

r——单位压力下滤饼的比阻，$1/m^2$；

C——滤饼体积与相应的滤液体积之比，无量纲；

V_e——虚拟滤液体积，m^3；

对于一定的悬浮液，在恒温和恒压下过滤时，μ、r、C 和 Δp 都恒定，为此令：

$$K=\frac{2\Delta p^{(1-s)}}{\mu r C} \tag{4-2}$$

于是式(4-1) 可改写为：

$$\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}\tau}=\frac{KA^2}{2(V+V_e)} \tag{4-3}$$

式中，K 为过滤常数，由物料特性及过滤压差所决定，m^2/s。

将式(4-3) 分离变量积分，整理得：

$$V^2+2VV_e=KA^2\tau \tag{4-4}$$

或

$$V_e^2=KA^2\tau_e \tag{4-5}$$

将式(4-4) 和式(4-5) 相加，可得：

$$(V+V_e)^2=KA^2(\tau+\tau_e) \tag{4-6}$$

式中，τ_e为虚拟过滤时间，相当于滤出滤液量 V_e 所需时间，s。

再将式(4-6) 微分，得：

$$2(V+V_e)\mathrm{d}V=KA^2\mathrm{d}\tau \tag{4-7}$$

将式(4-7) 写成差分形式，则

$$\frac{\Delta\tau}{\Delta q}=\frac{2}{K}\bar{q}+\frac{2}{K}q_e \tag{4-8}$$

式中 Δq——每次测定的单位过滤面积滤液体积（在实验中一般等量分配），m^3/m^2；

$\Delta\tau$——每次测定的滤液体积 Δq 所对应的时间，s；

$\bar{q}$——相邻两个 q 值的平均值，m^3/m^2；

q_e——每次测定的单位过滤面积的虚拟滤液体积，m^3/m^2。

以 $\Delta\tau/\Delta q$ 为纵坐标，$\bar{q}$为横坐标，将式(4-8) 标绘成一直线，可得该直线的斜率和截距，

斜率：

$$S=\frac{2}{K}$$

截距：

$$I=\frac{2}{K}q_e$$

再由 $q_e^2=K\tau_e$，求出 τ_e。

改变过滤压差 Δp，可测得不同的 K 值，由 K 的定义式(4-2) 两边取对数得：

$$\lg K=(1-s)\lg(\Delta p)+B \tag{4-9}$$

在实验压差范围内，若 B 为常数，则 $\lg K$-$\lg(\Delta p)$ 的关系在直角坐标上应是一条直线，斜率为 $(1-s)$，可得滤饼压缩性指数 s。

三、实验装置与流程

本实验装置由空压机、配料槽、压力料槽、板框过滤机等组成。

在配料桶中配制一定浓度的 $CaCO_3$ 悬浮液，利用压差送入压力料槽中，用压缩空气加以搅拌使 $CaCO_3$ 不致沉降，同时利用压缩空气的压力将滤浆送入板框压滤机过滤，滤液流入量筒计量，压缩空气从压力料槽上排空管中排出。

板框压滤机的结构尺寸为：框厚度 20mm，每个框过滤面积 0.038m^2，框数 2 个。

空气压缩机规格型号为：风量 0.06m^3/min，最大气压 0.8MPa。

四、实验步骤

1. 实验准备

① 关闭配料罐阀门，称取适量的 $CaCO_3$ 置于配料罐中，向配料罐中加水，配制成 10%～30%的水悬浮液，罐体直径 35mm，加水量按罐内标尺示意。

② 开启空压机，将压缩空气通入配料罐，使 $CaCO_3$ 悬浮液搅拌均匀。空压机的出口小球阀保持半开，进入配料罐的两个阀门保持适当开度。

③ 压力罐三路阀门分别设定为 0.1MPa、0.2MPa 和 0.3MPa（出厂已设定，每个间隔压力大于 0.05MPa。若欲作 0.3MPa 以上压力过滤，需调节压力罐安全阀）。设定定值调节阀时，压力罐泄压阀可略开。

④ 浸湿滤布，滤布紧贴滤板，密封垫贴紧滤布。滤布要绷紧，不能起皱。

⑤ 向清水罐通入自来水，液面达视镜 2/3 高度左右。灌清水时，应将安全阀处的泄压阀打开。

⑥ 在压力罐泄压阀打开的情况下，打开配料罐和压力罐间的进料阀门，使料浆自动由配料桶流入压力罐至其视镜$\frac{1}{3}\sim\frac{1}{2}$处，关闭进料阀门。

2. 过滤过程

① 打开压力料槽的排气阀，通压缩空气至压力罐，使容器内料浆不断搅拌，并不断排气，注意该过程中不能喷浆。

② 将中间双面板下通孔切换阀开到通孔通路状态。打开进板框前料液进口的两个阀门，打开出板框后清液出口球阀。此时，压力表指示过滤压力，清液出口流出滤液。

③ 过滤时间 $\Delta\tau$ 为滤液从汇集管刚流出，到 ΔV 为 800mL 时所需要的时间。每个压力下，测量 8～10 个读数即可停止实验。若欲得到干而厚的滤饼，则应每个压力下做到没有清液流出为止。注意：a. 不要流失滤液。b. 量筒要放平，待滤液面平静后正确读取 ΔV 值。c. 熟练双秒表轮流读数的方法。d. 最终的滤液、滤饼分别收集在小桶中。e. 滤饼重复利用，不可丢弃。f. 清水罐水不足时，打开该罐的泄压阀，适当补充一定水源。

3. 清洗过程

① 关闭板框过滤的进出阀门。将中间双面板下通孔切换阀开到通孔关闭状态。

② 打开清洗液进入板框的进出阀门（板框前两个进口阀，板框后一个出口阀）。此时，压力表指示清洗压力，清液出口流出清洗液。清洗液速度比同压力下过滤速度小很多。

③ 观察流出清洗液的浑浊度，判断清洗过程是否可以结束。待清洗液清澈透亮时，关闭清洗液进出板框的阀门，关闭定值调节阀后进气阀门，结束清洗过程。一般物料不需清洗过程。

4. 实验结束

① 先关闭空压机出口球阀，关闭空压机电源。

② 打开安全阀处泄压阀，使压力罐和清水罐泄压。

③ 冲洗滤框、滤板，滤布不要折，应当用刷子刷洗。

④ 将压力罐内物料反压到配料罐内备下次实验使用，或将该两罐物料直接排空后用清水冲洗。

五、实验结果

1. 滤饼常数 K 的求取

计算举例：以 $p=1.0\text{kgf/cm}^2$[1] 时的一组数据为例。

过滤面积 $A=0.024\times2=0.048\text{m}^2$；

$\Delta V_1=637\times10^{-6}\ \text{m}^3$；$\Delta\tau_1=31.98\text{s}$；

$\Delta V_2=630\times10^{-6}\ \text{m}^3$；$\Delta\tau_2=35.67\text{s}$；

$\Delta q_1=\Delta V_1/A=637\times10^{-6}/0.048=0.013271\ (\text{m}^3/\text{m}^2)$；

$\Delta q_2=\Delta V_2/A=630\times10^{-6}/0.048=0.013125\ (\text{m}^3/\text{m}^2)$；

$\Delta\tau_1/\Delta q_1=31.98/0.013271=2409.766\ (\text{sm}^2/\text{m}^3)$；

$\Delta\tau_2/\Delta q_2=35.67/0.013125=2717.714\ (\text{sm}^2/\text{m}^3)$；

$q_0=0\text{m}^3/\text{m}^2$；$q_1=q_0+\Delta q_1=0.013271\ (\text{m}^3/\text{m}^2)$，$q_2=q_1+\Delta q_2=0.026396\ (\text{m}^3/\text{m}^2)$；

[1] $1\text{kgf/cm}^2=98.0665\text{Pa}$。

$\bar{q}_1=\frac{1}{2}(q_0+q_1)=0.0066355(m^3/m^2)$；$\bar{q}_2=\frac{1}{2}(q_1+q_2)=0.0198335(m^3/m^2)$

依此算出多组 $\Delta\tau/\Delta q$ 及 $\bar{q}$；

……

在直角坐标系中绘制 $\Delta\tau/\Delta q$-$\bar{q}$的关系曲线，如图 4-1 所示，从该图中读出斜率可求得 K。不同压力下的 K 值列于表 4-1 中。

表 4-1　不同压力下的 K 值

$\Delta p/(kgf/cm^2)$	过滤常数 $K/(m^2/s)$
1.0	8.524×10^{-5}
1.5	1.191×10^{-4}
2.0	1.486×10^{-4}

2. 滤饼压缩性指数 s 的求取

计算举例：在压力 $p=1.0kgf/cm^2$ 时的 $\Delta\tau/\Delta q$-q 直线上，拟合得直线方程，根据斜率为 $2/K_3$，则 $K_3=0.00008524$。

将不同压力下测得的 K 值作 lgK-lgΔp 曲线，如图 4-2 所示，也拟合得直线方程，根据斜率为（$1-s$），可计算得 $s=0.198$。

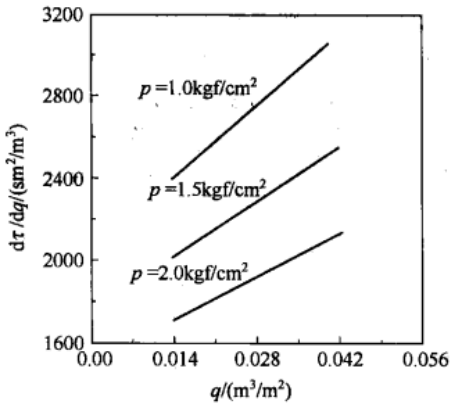


图 4-1　$\Delta\tau/\Delta q$-q 曲线

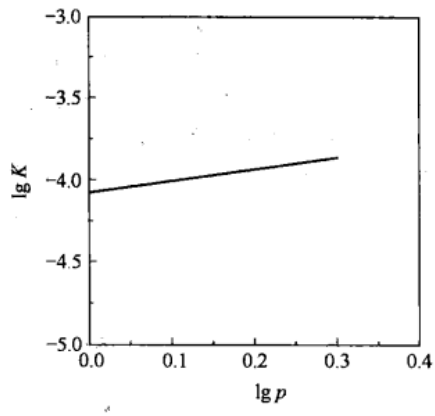


图 4-2　lgK-lgΔp 曲线

3. 数据记录表（表 4-2）

框长＝　　m；框宽＝　　m；表压＝　　MPa。

表 4-2　数据记录

次　数	滤液体积 ΔV/L	时间 θ/s	次　数	滤液体积 ΔV/L	时间 θ/s
1			5		
2			6		
3			7		
4			8		

4. 由恒压过滤实验数据求过滤常数 K、q_e、τ_e。

5. 比较几种压差下的 K、q_e、τ_e 值，讨论压差变化对以上参数数值的影响。

6. 在直角坐标纸上绘制 lgK-lgΔp 关系曲线，求出 s。

7. 实验结果分析与讨论。

六、注意事项

1. 搅拌时，应将配料罐的顶盖合上，以免悬浮液溅出。

2. 安装滤板和滤框用螺旋压紧时，注意不要将手指压伤，先慢慢转动手轮使板框合上，然后再压紧。

3. ΔV 约 800mL 时替换量筒，这时量筒内滤液量并非恰好为 800mL。要事先熟悉量筒刻度，不要打碎量筒。

七、思考题

1. 板框过滤机的优缺点是什么？适用于什么场合？

2. 板框压滤机的操作分哪几个阶段？

3. 为什么过滤开始时，滤液常常稍有浑浊，而一段时间后才变清？

4. 影响过滤速率的主要因素有哪些？当在某一恒压下测得 K、q_e、τ_e 值后，若将过滤压力提高 1 倍，则上述三个值将有何变化？

实验二　空气-蒸汽对流给热系数的测定

一、实验目的

1. 了解间壁式传热元件，掌握给热系数测定的实验方法。

2. 掌握热电阻测温的方法，观察水蒸气在水平管外壁上的冷凝现象。

3. 掌握给热系数测定的实验数据处理方法，了解影响给热系数的因素以及强化传热的途径。

二、基本原理

在一般的工业生产过程中，冷、热流体系通过固体壁面（传热元件）进行热量交换，称为间壁式传热。如图 4-3 所示，热流体对固体壁面的对流传热、固体壁面的热传导以及固体壁面对冷流体的对流传热组成了间壁式传热过程。

达到传热稳定时，有

$$Q=KA\Delta t_m \tag{4-10}$$

式中　Q——传热量，J/s；

K——以传热面积 A 为基准的总给热系数，W/(m² · ℃)；

Δt_m——冷热流体的对数平均温差，℃。

热流体与固体壁面的对数平均温差可由式(4-11) 计算，

$$(T-T_W)_m=\frac{(T_1-T_{W1})-(T_2-T_{W2})}{\ln\dfrac{T_1-T_{W1}}{T_2-T_{W2}}} \tag{4-11}$$

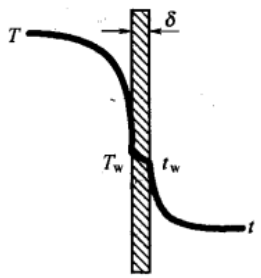


图 4-3　间壁式传热过程示意图

式中　T_{W1}——热流体进口处热流体侧的壁面温度，℃；

T_{W2}——热流体出口处热流体侧的壁面温度，℃。

固体壁面与冷流体的对数平均温差可由式(4-12) 计算，

$$(t_W-t)_m=\frac{(t_{W1}-t_1)-(t_{W2}-t_2)}{\ln\dfrac{t_{W1}-t_1}{t_{W2}-t_2}} \tag{4-12}$$

式中 t_{W1}——冷流体进口处冷流体侧的壁面温度，℃；

t_{W2}——冷流体出口处冷流体侧的壁面温度，℃。

热、冷流体间的对数平均温差可由式(4-13) 计算，

$$\Delta t_m=\frac{(T_1-t_2)-(T_2-t_1)}{\ln\dfrac{T_1-t_2}{T_2-t_1}} \tag{4-13}$$

当在套管式间壁换热器中，环隙通以水蒸气，内管管内通以冷空气或水进行对流传热系数测定实验时，则由式(4-10) 得内管内壁面与冷空气或水的对流传热系数为：

$$\alpha_2=\frac{m_2 c_{p2}(t_2-t_1)}{A_2(t_W-t)_m} \tag{4-14}$$

实验中测定紫铜管的壁温 t_{W1}、t_{W2}；冷空气或水的进出口温度 t_1、t_2；实验用紫铜管的长度 l、内径 d_2，$A_2=\pi d_2 l$；以及冷流体的质量流量，即可计算 α_2。

然而，直接测量固体壁面的温度，尤其是管内壁的温度，实验技术难度大，并且所得数据的准确性差。因此，通过测量相对较易测定的冷热流体温度来间接推算流体与固体壁面间的对流给热系数就成为人们广泛采用的一种实验研究手段。

由式(4-10) 得

$$K=\frac{m_2 c_{p2}(t_2-t_1)}{A\Delta t_m} \tag{4-15}$$

实验测定 m_2、t_1、t_2、T_1、T_2，并查取 $t_{平均}=\frac{1}{2}(t_1+t_2)$ 下冷流体对应的 c_{p2}、换热面积 A，即可由式(4-15) 计算得总给热系数 K。

下面通过两种方法来求对流给热系数。

1. 近似法求算对流给热系数 α_2

以管内壁面积为基准的总给热系数与对流给热系数间的关系为：

$$\frac{1}{K}=\frac{1}{\alpha_2}+R_{S2}+\frac{bd_2}{\lambda d_m}+R_{S1}\frac{d_2}{d_1}+\frac{d_2}{\alpha_1 d_1} \tag{4-16}$$

式中 d_1——换热管外径，m；

d_2——换热管内径，m；

d_m——换热管的对数平均直径，m；

b——换热管的壁厚，m；

λ——换热管材料的热导率，W/(m·℃)；

R_{S1}——换热管外侧的污垢热阻，m²·K/W；

R_{S2}——换热管内侧的污垢热阻，m²·K/W。

用本装置进行实验时，管内冷流体与管壁间的对流给热系数约为几十到几百 W/(m²·K)；而管外为蒸汽冷凝，冷凝给热系数 α_1 可达 10^4 W/(m²·K) 左右，因此冷凝传热热阻 $\frac{d_2}{\alpha_1 d_1}$ 可忽略，同时蒸汽冷凝较为清洁，因此换热管外侧的污垢热阻 R_{S1} 较小，$R_{S1}\left(\frac{d_2}{d_1}\right)$ 也可忽略。实验中的传热元件材料采用紫铜，热导率为 383.8W/(m·K)，壁厚为 2.5mm，因此换热管壁的导热热阻 $\frac{bd_2}{\lambda d_m}$ 可忽略。若换热管内侧的污垢热阻 R_{S2} 也忽略不计，则由式(4-16) 得，

$$\alpha_2\approx K \tag{4-17}$$

2. 传热特征数式求算对流给热系数 α_2

对于流体在圆形直管内作强制湍流对流传热时，若符合如下范围内：$Re=1.0\times10^4$ ～

1.2×10^5，$Pr=0.7\sim120$，管长与管内径之比 $l/d\geqslant60$，则传热特征数经验式为，

$$Nu=0.023Re^{0.8}Pr^n \tag{4-18}$$

$$Nu=\frac{\alpha d}{\lambda}$$

$$Re=\frac{du\rho}{\mu}$$

$$Pr=\frac{c_p\mu}{\lambda}$$

式中 Nu——努塞尔数，无量纲；

Re——雷诺数，无量纲；

Pr——普朗特数，无量纲；

α——流体与固体壁面的对流传热系数，W/(m² · ℃)；

d——换热管内径，m；

λ——流体的热导率，W/(m · ℃)；

u——流体在管内流动的平均速度，m/s；

ρ——流体的密度，kg/m³；

μ——流体的黏度，Pa · s；

c_p——流体的摩尔热容，J/(kg · ℃)；

n——当流体被加热时 $n=0.4$，流体被冷却时 $n=0.3$。

对于水或空气在管内强制对流被加热时，可将式(4-18) 改写为

$$\frac{1}{\alpha_2}=\frac{1}{0.023}\times\left(\frac{\pi}{4}\right)^{0.8}\times d_2^{1.8}\times\frac{1}{\lambda_2 Pr_2^{0.4}}\times\left(\frac{\mu_2}{m_2}\right)^{0.8} \tag{4-19}$$

令

$$m=\frac{1}{0.023}\times\left(\frac{\pi}{4}\right)^{0.8}\times d_2^{1.8} \tag{4-20}$$

$$X=\frac{1}{\lambda_2 Pr_2^{0.4}}\times\left(\frac{\mu_2}{m_2}\right)^{0.8} \tag{4-21}$$

$$Y=\frac{1}{K} \tag{4-22}$$

$$C=R_{S2}+\frac{bd_2}{\lambda d_m}+R_{S1}\frac{d_2}{d_1}+\frac{d_2}{\alpha_1 d_1} \tag{4-23}$$

则式(4-16) 可写为

$$Y=mX+C \tag{4-24}$$

当测定管内不同流量下的对流给热系数时，由式(4-23) 计算所得的 C 值为一常数。管内径 d_2 一定时，m 也为常数。因此，实验时测定不同流量所对应的 t_1、t_2、T_1、T_2，由式(4-13)、式(4-15)、式(4-21)、式(4-22) 求取一系列 X、Y 值，再在 X-Y 图上作图或将所得的 X、Y 值回归成一直线，该直线的斜率即为 m。任一冷流体流量下的给热系数 α_2 可用下式求得。

$$\alpha_2=\frac{\lambda_2 Pr_2^{0.4}}{m}\times\left(\frac{m_2}{\mu_2}\right)^{0.8} \tag{4-25}$$

3. 冷流体质量流量的测定

① 若用转子流量计测定冷空气的流量，还须用下式换算得到实际的流量。

$$V'=V\sqrt{\frac{\rho(\rho_f-\rho')}{\rho'(\rho_f-\rho)}} \tag{4-26}$$

式中 V'——实际被测流体的体积流量，m³/s；

ρ'——实际被测流体的密度，kg/m³；均可取 $t_{平均}=\frac{1}{2}(t_1+t_2)$ 下对应水或空气的密度，见冷流体物性与温度的关系式；

V——标定用流体的体积流量，m³/s；

ρ——标定用流体的密度，kg/m³；对水 $\rho=1000\text{kg/m}^3$；对空气 $\rho=1.205\text{kg/m}^3$；

ρ_f——转子材料密度，kg/m³。

于是

$$m_2=V'\rho' \tag{4-27}$$

② 若用孔板流量计测冷流体的流量，则

$$m_2=\rho V \tag{4-28}$$

式中，V 为冷流体进口处流量计读数；ρ 为冷流体进口温度下对应的密度。

4. 冷流体物性与温度的关系式

在 0～100℃之间，冷流体的物性与温度的关系有如下拟合公式。

① 空气的密度与温度的关系式：

$$\rho=10^{-5}t^2-4.5\times10^{-3}t+1.2916 \tag{4-29}$$

② 空气的摩尔热容与温度的关系式：

$$\begin{aligned}&60℃以下\ c_p=1005\text{J/(kg}\cdot℃)\\&70℃以上\ c_p=1009\text{J/(kg}\cdot℃)\end{aligned} \tag{4-30}$$

③ 空气的热导率与温度的关系式：

$$\lambda=-2\times10^{-8}t^2+8\times10^{-5}t+0.0244 \tag{4-31}$$

④ 空气的黏度与温度的关系式：

$$\mu=(-2\times10^{-6}t^2+5\times10^{-3}t+1.7169)\times10^{-5} \tag{4-32}$$

三、实验装置与流程

1. 实验装置

实验装置如图 4-4 所示。

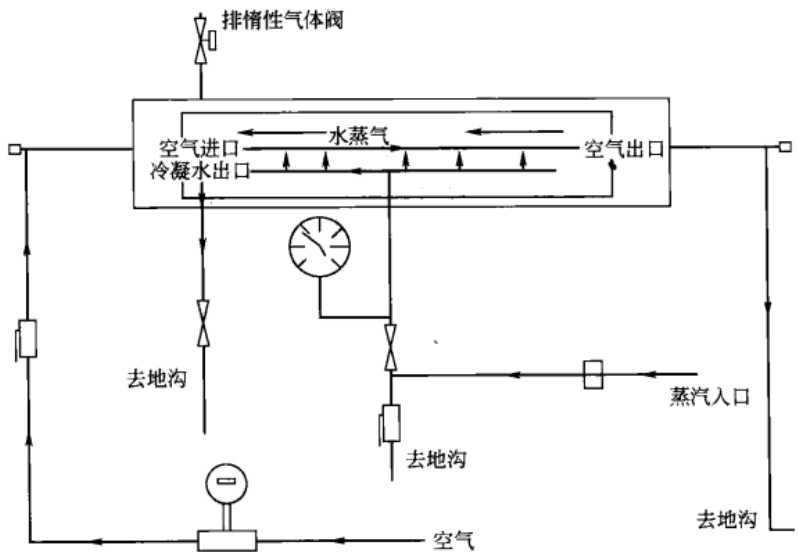


图 4-4　空气-水蒸气换热流程图

来自蒸汽发生器的水蒸气进入不锈钢套管换热器环隙，与来自风机的空气在套管换热器内

进行热交换，冷凝水排入地沟。冷空气经孔板流量计或转子流量计进入套管换热器内管（紫铜管），热交换后排出装置外。

2. 设备与仪表规格

① 紫铜管规格：直径 ϕ21mm×2.5mm，长度 L=1m。

② 外套不锈钢管规格：直径 ϕ100mm×5mm，长度 L=1m。

③ 铂热电阻及无纸记录仪温度显示。

④ 全自动蒸汽发生器及蒸汽压力表。

四、实验步骤

1. 打开控制面板上的总电源开关，打开仪表电源开关，使仪表通电预热，观察仪表显示是否正常。

2. 在蒸汽发生器中灌装清水至水箱的球体中部，开启发生器电源，冷水加热，达到所需的蒸汽压力后，系统自动转入保温状态。

3. 打开控制面板上的风机电源开关，让风机工作，同时打开冷流体进口阀，让套管换热器内充有一定量的空气。

4. 打开冷凝水出口阀，排出残留冷凝水。注意：实验中，冷凝水出口阀要始终保持一定开度，开度大小以换热器中的蒸汽不至于散失和换热不锈钢管里的蒸汽压力不至于过大为准。

5. 关闭蒸汽进口阀门，打开装置下面的排冷凝水阀门，利用蒸汽压力，排除蒸汽发生器到实验装置之间管道中的冷凝水。当听到蒸汽响时关闭冷凝水出口阀，通水蒸气，继续下一步实验。

① 通入蒸汽时，要小心调节蒸汽阀的开度，保证蒸汽徐徐流入换热器中，避免不锈钢管换热器因突然受热、受压而爆裂。系统由“冷态”转变为“热态”的时间不少于 10min。

② 调节蒸汽发生器出口阀及蒸汽进口阀开度，使蒸汽进口压力维持在 0.01MPa。

③ 通过仪表调节风机转速频率来改变冷空气进口流量，在每个流量条件下，均须待热交换过程稳定后方可记录实验数值，一般每个流量下至少应使热交换过程保持 15min 方可视为稳定；改变流量，记录不同流量下的实验数值。

④ 记录 6～8 组实验数据，可结束实验。关机顺序：关闭蒸汽发生器、蒸汽进口阀、仪表电源，系统逐渐冷却后关闭风机电源，冷凝水流尽后关闭冷凝水出口阀，最后关闭总电源。

⑤ 打开实验软件，输入实验数据，进行后续处理。

五、实验数据处理

1. 实验记录（表 4-3）

室温 =　　℃；大气压=　　MPa。

表 4-3　实验数据记录

次数	空　气			蒸　汽		
	进口温度/℃	出口温度/℃	流量/(m^3/h)	进口温度/℃	出口温度/℃	流量/(m^3/h)
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						

2. 打开数据处理软件，在教师界面左上“设置”的下拉菜单中输入装置参数管长、管内径以及转子流量计的转子密度（在本套装置中，管长为 1m，管内径为 16mm，转子流量计的转子密度为 $7.9\times10^3 kg/m^3$）。

3. 数字型装置可以实现数据直接导入实验数据软件，可以表格形式得到本实验所要的最终处理结果，点“显示曲线”，则可得到实验结果的曲线对比图和拟合公式。

4. 数据输入错误，或明显不符合实验情况时，程序会有警告对话框跳出。每次修改数据后，都应点击“保存数据”，再按 2 步中次序，点击“显示结果”和“显示曲线”。

5. 记录软件处理结果，并可作为手算处理的对照。结束，点“退出程序”。

六、实验结果

1. 冷流体给热系数的实验值与理论值列表比较，计算各点误差，并分析讨论。

2. 冷流体给热系数的特征数式：$Nu/Pr^{0.4}=ARe^m$，由实验数据作图拟合曲线方程，确定式中常数 A 及 m。

3. 以 $\ln(Nu/Pr^{0.4})$ 为纵坐标、$\ln(Re)$ 为横坐标，将两种方法处理实验数据的结果标绘在图上，并与教材中的经验式 $Nu/Pr^{0.4}=0.023Re^{0.8}$ 比较。

七、注意事项

1. 先打开排冷凝水的阀门，注意只开一定的开度，开的太大会使换热器里的蒸汽跑掉，开的太小会使换热不锈钢管里的蒸汽压力增大而使不锈钢管炸裂。

2. 套管换热器内管通有一定量的空气后，打开蒸汽阀门，另外，排除蒸汽管线上原先积存的凝结水后，把蒸汽通入套管换热器中。

3. 刚开始通入蒸汽时，要仔细调节蒸汽进口阀的开度，让蒸汽徐徐流入换热器中，逐渐加热，由“冷态”转变为“热态”，不得少于 10min，以防止不锈钢管因突然受热、受压而爆裂。

4. 实验操作过程中，蒸汽压力应控制在 0.02MPa（表压）以下，以免压力过大造成不锈钢管爆裂和填料损坏。

5. 确定各参数时，必须是在稳定传热状态下，随时注意蒸汽量的调节和压力表读数的调整。

八、思考题

1. 传热效果是否受冷流体和蒸汽流向的影响？有何影响？

2. 实验过程中，冷凝水不及时排走会产生什么影响？如何及时排走冷凝水？

实验三　离心泵特性曲线测定

一、实验目的

1. 了解离心泵结构与特性，熟悉离心泵的使用。

2. 掌握离心泵特性曲线测定方法。

3. 了解电动调节阀的工作原理和使用方法。

二、基本原理

离心泵的特性曲线是选择和使用离心泵的重要依据之一，其特性曲线是在恒定转速下泵的

扬程 H、轴功率 N 及效率 η 与泵的流量 Q 之间的关系曲线，它是流体在泵内流动规律的宏观表现形式。由于泵内部流动情况复杂，不能用理论方法推导出泵的特性关系曲线，只能依靠实验测定。

1. 扬程 H 的测定与计算

由于两截面间的管长较短，通常可忽略阻力，速度平方差也很小而可忽略，则有

$$H=(z_2-z_1)+\frac{p_2-p_1}{\rho g}=H_0+H_1(\text{表值})+H_2 \tag{4-33}$$

式中 H_0——表示泵出口和进口间的位差，$H_0=z_2-z_1$，m；

ρ——流体密度，kg/m^3；

g——重力加速度，m/s^2；

p_1，p_2——分别为泵进口的真空度和出口的表压，Pa；

H_1，H_2——分别为泵进口的真空度和出口的表压对应的压头，m；

z_1，z_2——分别为真空表、压力表的安装高度，m。

由式(4-33) 可知，只要直接读出真空表和压力表上的数值，及两表的安装高度差，就可计算出泵的扬程。

2. 轴功率 N 的测量与计算

$$N(\text{W})=N_{\text{电}}\times k \tag{4-34}$$

式中，$N_{\text{电}}$ 为电功率表显示值；k 代表电动机传动效率，可取 $k=0.95$。

3. 效率 η 的计算

泵的效率 η 是泵的有效功率 N_e 与轴功率 N 的比值。有效功率 N_e 是单位时间内流体经过泵时所获得的实际功，轴功率 N 是单位时间内泵轴从电动机得到的功，两者差异反映了水力损失、容积损失和机械损失的大小。

泵的有效功率 N_e 可用下式计算：

$$N_e=HQ\rho g \tag{4-35}$$

故泵效率为

$$\eta=\frac{HQ\rho g}{N}\times 100\% \tag{4-36}$$

4. 转速改变时的换算

泵的特性曲线是在定转速下的实验测定所得。但是，实际上感应电动机在转矩改变时，其转速会有变化，这样随着流量 Q 的变化，多个实验点的转速 n 将有所差异，因此在绘制特性曲线之前，须将实测数据换算为某一定转速 n' 下（可取离心泵的额定转速 2900r/min）的数据。换算关系如下所述。

流量

$$Q'=Q\frac{n'}{n} \tag{4-37}$$

扬程

$$H'=H\left(\frac{n'}{n}\right)^2 \tag{4-38}$$

轴功率

$$N'=N\left(\frac{n'}{n}\right)^3 \tag{4-39}$$

效率

$$\eta'=\frac{Q'H'\rho g}{N'}=\frac{QH\rho g}{N}=\eta \tag{4-40}$$

三、实验装置与流程

离心泵特性曲线测定装置流程如图 4-5 所示。

四、实验步骤

1. 清洗水箱，并加装实验用水。给离心泵灌水，排出泵内气体。

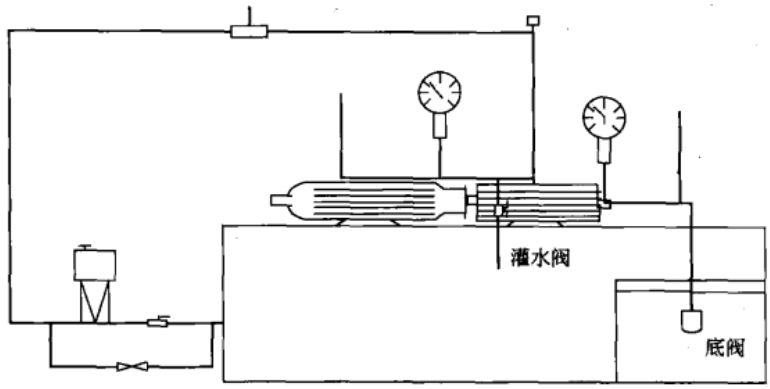


图 4-5　实验装置流程示意图

2. 检查电源和信号线是否与控制柜连接正确，检查各阀门开度和仪表自检情况，试开状态下检查电动机和离心泵是否正常运转。

3. 实验时，逐渐打开调节阀以增大流量，待各仪表读数显示稳定后，读取相应数据（离心泵特性实验部分，主要获取实验参数为：流量 Q、泵进口压力 p_1、泵出口压力 p_2、电动机功率 $N_{电}$、泵转速 n，及流体温度 t 和两测压点间高度差 H_0）。

4. 测取 10 组左右数据后，可以停泵，同时记录设备的相关数据（如离心泵型号、额定流量、扬程和功率等）。

五、数据处理

1. 记录实验原始数据如表 4-4。

离心泵型号_____，额定流量_____，额定扬程_____，额定功率_____，泵进出口测压点高度差 H_0 _____，流体温度 t _____。

表 4-4　实验原始数据记录

实验次数	流量 Q /(m^3/h)	泵进口压力 p_1 /kPa	泵出口压力 p_2 /kPa	电动机功率 $N_{电}$ /kW	泵转速 n /(r/min)

2. 根据原理部分的公式，按比例定律校合转速后，计算各流量下的泵扬程、轴功率和效率，如表 4-5。

表 4-5　校合转速后的实验数据记录

实验次数	流量 Q /(m^3/h)	扬程 H /m	轴功率 N /kW	泵效率 η /%

3. 分别绘制一定转速下的 H-Q、N-Q、η-Q 曲线。

4. 分析实验结果，判断泵最为适宜的工作范围。

六、注意事项

1. 一般每次实验前，均需对泵进行灌泵操作，以防止离心泵气缚。同时注意定期对泵进行保养，防止叶轮被固体颗粒损坏。

2. 由于泵高速转动，所以泵运转过程中，勿触碰泵主轴部分，以免缠绕并伤害身体接触部位。

七、思考题

1. 根据实验数据分析，启动离心泵时为什么要关闭出口阀门？

2. 为什么引水灌泵后才可以启动离心泵？如果灌泵后依然启动不起来，你认为可能的原因是什么？

3. 为什么用泵的出口阀门调节流量？这种方法有什么优缺点？还有其他方法调节流量吗？

4. 泵启动后，如果不打开出口阀，压力表读数是否会逐渐上升？为什么？

5. 在正常工作的离心泵进口管路上安装阀门是否合理？为什么？

6. 试分析，用清水泵输送密度为 1200kg/m^3 的盐水，在相同流量下你认为泵的压力是否变化？轴功率是否变化？

实验四　流体流动阻力的测定

一、实验目的

1. 掌握测定流体流经直管、管件和阀门时阻力损失的一般实验方法。

2. 测定直管摩擦系数 λ 与雷诺数 Re 的关系，验证在一般湍流区内 λ 与 Re 的关系曲线。

3. 测定流体流经管件、阀门时的局部阻力系数 ζ。

4. 学会倒 U 形压差计和涡轮流量计的使用方法。

5. 识辨组成管路的各种管件、阀门，并了解其作用。

二、实验原理

流体通过由直管、管件（如三通和弯头等）和阀门等组成的管路系统时，由于黏性剪应力和涡流应力的存在，要损失一定的机械能。流体流经直管时所造成的机械能损失称为直管阻力损失。流体通过管件、阀门时因流体运动方向和速度大小改变所引起的机械能损失称为局部阻力损失。

1. 直管阻力摩擦系数 λ 的测定

流体在水平等径直管中稳定流动时，阻力摩擦系数为：

$$\lambda=\frac{2d\Delta p_f}{\rho l u^2} \tag{4-41}$$

式中 λ——直管阻力摩擦系数，无量纲；

d——直管内径，m；

Δp_f——流体流经 lm 直管的压力降，Pa；

ρ——流体密度，kg/m^3；

l——直管长度，m；

u——流体在管内流动的平均流速，m/s。

滞流（层流）时，

$$\lambda=\frac{64}{Re} \tag{4-42}$$

$$Re=\frac{du\rho}{\mu} \tag{4-43}$$

式中 Re——雷诺数，无量纲；

μ——流体黏度，kg/(m·s)。

湍流时 λ 是雷诺数 Re 和相对粗糙度（ε/d）的函数，须由实验确定。

由式(4-41) 可知，欲测定 λ，需确定 l、d，测定 Δp_f、u、ρ、μ 等参数。l、d 为装置参数（装置参数见表 4-6），ρ、μ 通过测定流体温度，再查有关手册而得，u 通过测定流体流量，再由管径计算得到。

本装置采用涡轮流量计测流量 V，m^3/h。

$$u=\frac{V}{900\pi d^2} \tag{4-44}$$

Δp_f可用 U 形管、倒置 U 形管、测压直管等液柱压差计测定，或采用差压变送器和二次仪表显示。

(1) 当采用倒置 U 形管液柱压差计时

$$\Delta p_f=\rho g R \tag{4-45}$$

式中，R 为水柱高度，m。

(2) 当采用 U 形管液柱压差计时

$$\Delta p_f=(\rho_0-\rho)gR \tag{4-46}$$

式中，R 为液柱高度，m；ρ_0为指示液密度，kg/m^3。

根据实验装置结构参数 l、d，指示液密度 ρ_0，流体温度 t_0（查流体物性 ρ、μ），及实验时测定的流量 V、液柱压差计的读数 R，通过式(4-44)、式(4-45) 或式(4-46)、式(4-43) 和式(4-41) 求取 Re 和 λ，再将 Re 和 λ 标绘在双对数坐标图上。

2. 局部阻力系数 ξ 的测定

局部阻力损失通常有两种表示方法，即当量长度法和阻力系数法。

(1) 当量长度法　流体流过某管件或阀门时造成的机械能损失可看作与某一长度为 l_e 的同直径的管道所产生的机械能损失相当，此折合的管道长度称为当量长度，用符号 l_e 表示。这样，就可以用直管阻力的公式来计算局部阻力损失，而且在管路计算时可将管路中的直管长度与管件、阀门的当量长度合并在一起计算，则流体在管路中流动时的总机械能损失 $\sum h_f$ 为：

$$\sum h_f=\lambda\frac{l+\sum l_e}{d}\frac{u^2}{2} \tag{4-47}$$

(2) 阻力系数法　流体通过某一管件或阀门时的机械能损失表示为流体在小管径内流动时平均动能的某一倍数，局部阻力的这种计算方法称为阻力系数法。即：

$$\zeta=\frac{2\Delta p'_f}{\rho g u^2} \tag{4-48}$$

式中，ζ 为局部阻力系数，无量纲；$\Delta p'_f$ 为局部阻力压力降，Pa（本装置中，所测得的压降应扣除两测压口间直管段的压降，直管段的压降由直管阻力实验结果求取）；ρ 为流体密度，kg/m^3；g 为重力加速度，$9.81m/s^2$；u 为流体在小截面管中的平均流速，m/s。

待测的管件和阀门由现场指定。本实验采用阻力系数法表示管件或阀门的局部阻力损失。

根据连接管件或阀门两端管径中小管的直径 d、指示液密度 ρ_0、流体温度 t_0（查流体物性 ρ、μ），及实验时测定的流量 V、液柱压差计的读数 R，通过式(4-44)、式(4-45) 或式(4-46)、式(4-48) 求取管件或阀门的局部阻力系数 ζ。

三、实验装置与流程

1. 实验装置

实验装置如图 4-6 所示。

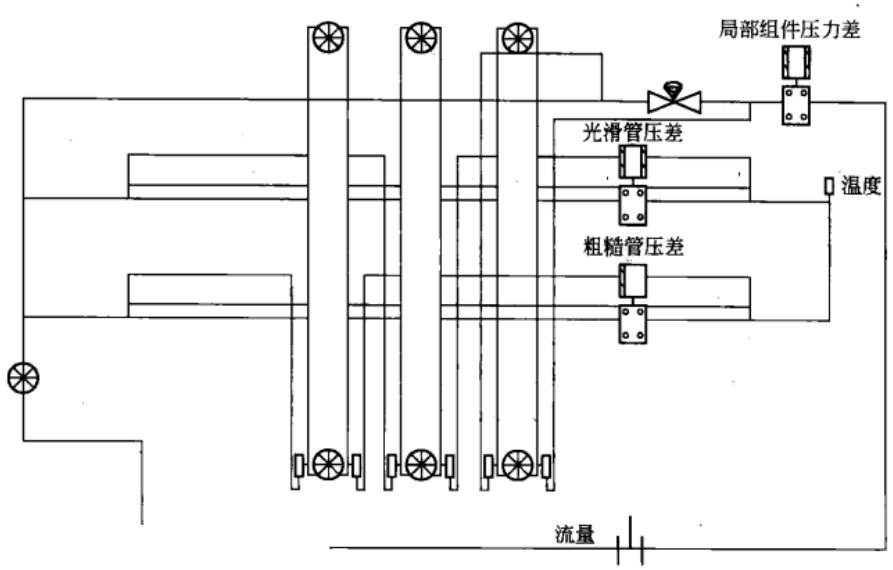


图 4-6　实验装置流程示意图

2. 实验流程

实验对象部分是由贮水箱，离心泵，不同管径、材质的水管，各种阀门、管件，涡轮流量计和倒 U 形压差计等组成。管路部分有三段并联的长直管，自上而下的作用分别为：测定局

部阻力系数、光滑管直管阻力系数和粗糙管直管阻力系数。除了粗糙管直管阻力的测定对象为管道内壁较粗糙的镀锌管外，局部阻力和光滑管直管阻力的测定均为内壁光滑的不锈钢管。另外，局部阻力测定部分使用的不锈钢管上装有待测管件（闸阀）。

水的流量使用涡轮流量计测量，管路和管件的阻力采用各自的倒 U 形压差计测量，同时差压变送器将差压信号传递给差压显示仪。

3. 装置参数

装置参数如表 4-6 所示。

表 4-6　装置参数

装　置	名　称	材　质	管路号	管内径	测量段长度/cm
装置 1	局部阻力	闸阀	1A	22.0	100
	光滑管	不锈钢管	1B	20.9	100
	粗糙管	镀锌铁管	1C	21.1	100
装置 2	局部阻力	闸阀	2A	21.9	100
	光滑管	不锈钢管	2B	21.1	100
	粗糙管	镀锌铁管	2C	21.1	100
装置 3	局部阻力	闸阀	3A	21.9	100
	光滑管	不锈钢管	3B	20.9	100
	粗糙管	镀锌铁管	3C	21.3	100
装置 4	局部阻力	闸阀	4A	21.9	100
	光滑管	不锈钢管	4B	21.0	100
	粗糙管	镀锌铁管	4C	21.4	100

其中，管路号及管内径也已分别标识于管路上。

四、实验步骤

1. 向水泵中灌水，然后关闭出口阀，启动水泵电机，待电机转动平稳后，把泵的出口阀缓缓开到最大。

2. 采用手动方法测量时，对倒 U 形压差计进行排气和调零，使压差计两端在带压且零流量时的液位高度相等。由于本流体力学综合装置中，选用的经典离心泵扬程较高，故倒 U 形压差计的量程只能做到一定程度，大流量数据应取差压变送器测得的压差。

3. 实验时可以分别使用自动或手动方法。手动方法时，先缓缓开启调节阀，调节流量，让流量逐渐从 0.8m^3/h 到 5m^3/h 变化，建议每次实验变化 0.3m^3/h 左右。每次改变流量，待流动达到稳定后，分别记下压差计左右两管的液位高度，两高度相减的绝对值即为该流量下的压差。注意正确读取不同流量下的压差和流量等有关参数。使用自动方法时，流量值可以由无纸记录仪的流量通道显示，改变流量时只需改变流量控制通道的设定即可，同理，压差值可以直接由无纸记录仪的压差显示通道读取。

4. 装置确定时，根据 ΔP 和 u 的实验测定值，可计算 λ 和 ζ，在等温条件下，雷诺数 $Re=du\rho/\mu=Au$，其中 A 为常数，因此只要调节管路流量，即可得到一系列 λ-Re 的实验点，从而绘出 λ-Re 曲线。

5. 实验结束，关闭出口阀，停止水泵电机，清理装置。

五、实验结果

1. 根据上述实验测得的数据填写于表 4-7。

实验日期：_____ 实验人员：_____ 学号：_____ 温度：_____ 装置号：_____

直管基本参数：光滑管径_____，粗糙管径_____，局部阻力管径_____。

表 4-7 实验数据记录

序号	流量/(m^3/h)	光滑管/mmH_2O			粗糙管/mmH_2O			局部阻力/mmH_2O		
		左	右	压差	左	右	压差	左	右	压差

注：1mmH_2O=9.80665Pa。

2. 根据粗糙管实验结果，在双对数坐标纸上标绘出 λ-Re 曲线，对照食品工程原理教材上有关曲线图，即可估算出该管的相对粗糙度和绝对粗糙度。

3. 根据光滑管实验结果，对照柏拉修斯方程，计算其误差。

4. 根据局部阻力实验结果，求出闸阀全开时的平均 ζ 值。

5. 对实验结果进行分析讨论。

六、注意事项

1. 必须进行灌泵操作，否则离心泵会发生气缚现象。

2. 关闭出口阀，再启动水泵电机，待电机转动平稳后，把泵的出口阀缓缓开到最大。

七、思考题

1. 在对装置做排气工作时，一定要关闭流程尾部的出口阀吗？为什么？

2. 如何检测管路中的空气是否被排除干净？

3. 以水作介质所测得的 λ-Re 关系能否适用于其他流体？如何应用？

4. 在不同设备上（包括不同管径），不同水温下测定的 λ-Re 数据能否关联在同一条曲线上？

5. 如果测压口、孔边缘有毛刺或安装不垂直，对静压的测量有何影响？

实验五 流化床干燥实验

一、实验目的

1. 了解流化床干燥装置的基本结构、工艺流程和操作方法。

2. 学习测定物料在恒定干燥条件下干燥特性的实验方法。

3. 掌握根据实验干燥曲线求取干燥速率曲线以及恒速阶段干燥速率、临界含水量、平衡含水量的实验分析方法。

4. 通过实验研究干燥条件对于干燥过程特性的影响。

二、实验原理

在设计干燥器的尺寸或确定干燥器的生产能力时，被干燥物料在给定干燥条件下的干燥速率、临界湿含量和平衡湿含量等干燥特性数据是最基本的技术依据参数。由于实际生产中被干燥物料的性质千变万化，因此对于大多数具体的被干燥物料而言，其干燥特性数据常常需要通过实验测定而取得。

按干燥过程中的空气状态参数是否变化，可将干燥过程分为恒定干燥条件操作和非恒定干燥条件操作两大类。若用大量空气干燥少量物料，则可以认为湿空气在干燥过程中的温度、湿度均不变，再加上气流速度以及气流与物料的接触方式不变，因此称这种操作为恒定干燥条件下的干燥操作。

1. 干燥速率的定义

干燥速率定义为单位干燥面积（提供湿分汽化的面积）单位时间内所除去的湿分质量，即：

$$U=\frac{\mathrm{d}W}{A\,\mathrm{d}\tau}=-\frac{G_C\,\mathrm{d}X}{A\,\mathrm{d}\tau} \tag{4-49}$$

式中 U——干燥速率（干燥通量），kg/(m² · s)；

A——干燥表面积，m²；

W——汽化的湿分量，kg；

τ——干燥时间，s；

G_C——绝干物料的质量，kg；

X——物料湿含量，kg 湿分/kg 干物料，负号表示 X 随干燥时间的增加而减少。

2. 干燥速率的测定方法

(1) 方法一

① 将电子天平调至工作状态，待用。

② 开启快速水分测定仪，待用。

③ 准备 0.5～1kg 的湿物料（如取 0.5～1kg 的绿豆放入 60～70℃的热水中泡 30min，取出，并用干毛巾吸干表面水分），待用。

④ 开启风机，调节风量至 40～60m³/h，打开加热器加热。通常待热风温度恒定在 70～80℃后，将湿物料加入流化床中，开始计时，每 4min 取物料一次，取出量为 10g 左右，同时读取床层温度。将取出的湿物料在快速水分测定仪中测定，得初始质量 G_i 和终了质量 G_{iC}。则物料瞬间含水率 X_i 为

$$X_i=\frac{G_i-G_{iC}}{G_{iC}} \tag{4-50}$$

(2) 方法二（数字化实验设备可用此法） 利用床层的压降来测定干燥过程中的失水量。

① 同方法一③。

② 开启风机，调节风量至 40～60m³/h，打开加热器加热。待热风温度恒定后（通常可设定在 70～80℃），将湿物料加入流化床中，开始计时，床层压差随时间减小，实验至床层压差（Δp_e）恒定后为止。则物料中瞬间含水率 X_i 为

$$X_i=\frac{\Delta p-\Delta p_e}{\Delta p_e} \tag{4-51}$$

式中，Δp 为时刻 τ 时床层的压差。

计算出每一时刻的瞬间含水率 X_i，然后将 X_i 对干燥时间 τ_i 作图，如图 4-7 所示，即为干燥曲线。

上述干燥曲线还可以变换得到干燥速率曲线。由已测得的干燥曲线求出不同 X_i 下的斜率 $\frac{dX_i}{d\tau_i}$，再由式(4-49) 计算得到干燥速率 U，将 U 对 X 作图，就是干燥速率曲线，如图 4-8 所示。

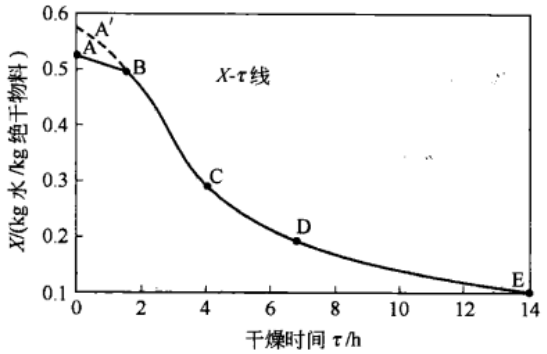


图 4-7　恒定干燥条件下的干燥曲线

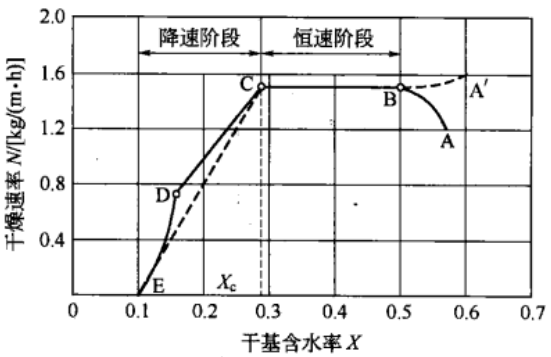


图 4-8　恒定干燥条件下的干燥速率曲线

根据某时刻对应的床层温度作图，可得床层的温度与干燥时间的关系曲线。

3. 干燥过程分析

(1) 预热段　见图 4-7、图 4-8 中的 AB 段或 A′B 段。物料在预热段中，含水率略有下降，温度升至湿球温度 t_W，干燥速率可呈上升趋势变化或下降趋势变化。干燥过程的预热段经历的时间很短，甚至没有预热段，因此，预热段时间通常在干燥计算中忽略不计。

(2) 恒速干燥阶段　见图 4-7、图 4-8 中的 BC 段。该段物料水分不断汽化，含水率不断下降。但由于这一阶段去除的是物料表面附着的非结合水分，水分去除的机理与纯水的相同，故在恒定干燥条件下，物料表面始终保持为湿球温度 t_W，传质推动力保持不变，因而干燥速率也不变。因此，在图 4-8 中，BC 段为水平线。

只要物料表面保持足够湿润，物料的干燥过程总处于恒速阶段。由于物料表面水分的汽化速率（物料外部的空气干燥条件）决定了该段干燥速率的大小，所以该段又称为表面汽化控制阶段。

(3) 降速干燥阶段　随着干燥过程的进行，物料内部水分移动到表面的速度会小于表面水分的汽化速率，物料表面局部出现“干区”，尽管这时物料其余表面的平衡蒸汽压仍与纯水的饱和蒸汽压相同，但以物料全部外表面计算的干燥速率因“干区”的出现而降低，此时物料中的含水率称为临界含水率，用 X_C 表示，对应图 4-8 中的 C 点，称为临界点。过 C 点以后，干燥速率逐渐降低至 D 点，C 至 D 阶段称为降速第一阶段。

干燥到 D 点时，物料表面全部形成干区，汽化面逐渐向物料内部移动，汽化所需的热量必须通过已被干燥的固体层才能传递到汽化面；从物料中汽化的水分也必须通过这一干燥层才能传递到空气主流中。干燥速率因热量和质量传递的途径增加而下降。此外，在 D 点以后，物料中的非结合水分已被除尽。接下去所汽化的是各种形式的结合水，因而，平衡蒸汽压将逐渐下降，传质推动力减小，干燥速率也随之较快降低，直至到达 E 点时，速率降为零。这一阶段称为降速第二阶段。

降速阶段干燥速率曲线的形状随物料内部的结构而异，不一定都呈现如图 4-7、图 4-8 所示的曲线 CDE 形状。对于某些多孔性物料，可能关于降速的两个阶段的界限不是很明显，曲线好像只有 CD 段；对于某些无孔性吸水物料，汽化只在表面进行，干燥速率取决于固体内部

水分的扩散速率，故降速阶段只有类似 DE 段的曲线。

与恒速阶段相比，降速阶段从物料中除去的水分量相对较少，但所需的干燥时间却长得多。总之，降速阶段的干燥速率取决于物料本身结构、形状和尺寸，而与干燥介质状况关系不大，故降速阶段又称物料内部迁移控制阶段。

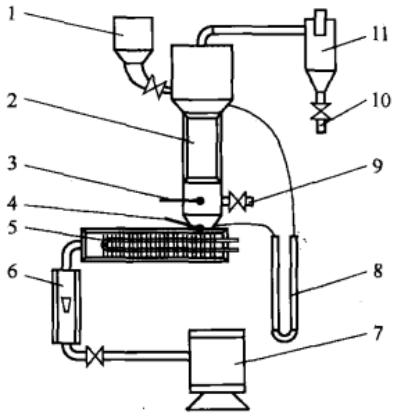


图 4-9　流化床干燥实验装置流程图

1—加料斗；2—床层（可视部分）；3—床层测温点；4—出加热器热风测温点；5—风加热器；6—转子流量计；7—风机；8—U 形压差计；9—取样口；10—排灰口；11—旋风分离器

三、实验装置

1. 装置流程

本装置流程如图 4-9 所示。

2. 主要设备及仪器

（1）鼓风机　BYF7122，370W；

（2）电加热器　额定功率 2.0kW；

（3）干燥室　ϕ100mm×750mm；

（4）干燥物料　湿绿豆或变色硅胶；

（5）床层压差　Sp0014 型压差传感器，或 U 形压差计。

四、实验步骤

1. 开启风机。

2. 打开仪表控制柜电源开关，加热器通电加热，床层进口温度要求恒定在 70～80℃左右。

3. 将准备好的绿豆加入流化床进行实验。

4. 每隔 4min 取样 5～10g 左右分析或由压差传感器记录床层压差，同时记录床层温度。

5. 待绿豆恒重或床层压差一定时，终止实验，关闭仪表电源。

6. 关闭加热电源。

7. 关闭风机，切断总电源，清理实验设备。

五、实验结果

1. 绘制干燥曲线（失水量-时间关系曲线）。

2. 根据干燥曲线作干燥速率曲线。

3. 读取物料的临界湿含量。

4. 绘制床层温度随时间变化的关系曲线。

5. 对实验结果进行分析讨论。

六、注意事项

必须先开风机，后开加热器，否则加热管可能会被烧坏。

七、思考题

1. 什么是恒定干燥条件？本实验装置中保持干燥过程在恒定干燥条件下进行的措施有哪些？

2. 控制恒速干燥阶段速率和降速干燥阶段干燥速率的因素是什么？

3. 为什么要先启动风机，再启动加热器？实验过程中床层温度是如何变化的？为什么？如何判断实验已经结束？

4. 若加大热空气流量，干燥速率曲线、恒速干燥速率、临界湿含量有何变化？为什么？

实验六　筛板塔精馏过程实验

一、实验目的

1. 了解筛板精馏塔及其附属设备的基本结构，掌握精馏过程的基本操作方法。

2. 学会判断系统达到稳定的方法，掌握测定塔顶、塔釜溶液浓度的实验方法。

3. 学习测定精馏塔全塔效率和单板效率的实验方法，研究回流比对精馏塔分离效率的影响。

二、实验原理

1. 全塔效率 E_T

全塔效率又称总板效率，是指达到指定分离效果所需理论板数与实际板数的比值，即

$$E_T=\frac{N_T-1}{N_P} \tag{4-52}$$

式中，N_T为完成一定分离任务所需的理论塔板数，包括蒸馏釜；N_P为完成一定分离任务所需的实际塔板数，本装置 $N_P=10$。

全塔效率简单地反映了整个塔内塔板的平均效率，说明了塔板结构、物性系数、操作状况对塔分离能力的影响。对于塔内所需理论塔板数 N_T，可由已知的双组分物系平衡关系，以及实验测得的塔顶、塔釜出液量组成，回流比 R 和热状况 q 等，用图解法求得。

2. 单板效率 E_M

单板效率又称莫弗里板效率，如图 4-10 所示，是指气相或液相经过一层实际塔板前后的组成变化值与经过一层理论塔板前后的组成变化值之比。

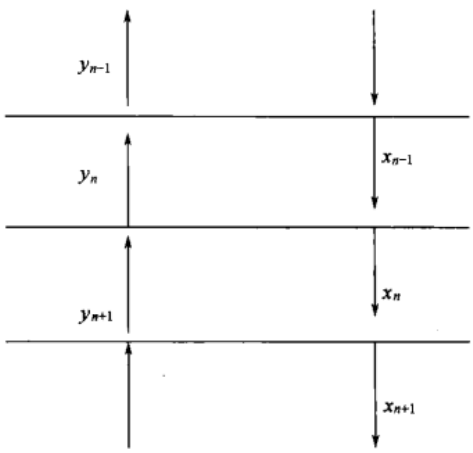


图 4-10　塔板气液流向示意

按气相组成变化表示的单板效率为

$$E_{MV}=\frac{y_n-y_{n+1}}{y_n^*-y_{n+1}} \tag{4-53}$$

按液相组成变化表示的单板效率为

$$E_{ML}=\frac{x_{n-1}-x_n}{x_{n-1}-x_n^*} \tag{4-54}$$

式中，y_n、y_{n+1}为离开第 n、$n+1$ 块塔板的气相组成，摩尔分数；x_{n-1}、x_n为离开第

$n-1$、n 块塔板的液相组成，摩尔分数；y_n^* 为与 x_n 成平衡的气相组成，摩尔分数；x_n^* 为与 y_n 成平衡的液相组成，摩尔分数。

3. 图解法求理论塔板数 N_T

图解法又称麦卡勃-蒂列（McCabe-Thiele）法，简称 M-T 法，其原理与逐板计算法完全相同，只是将逐板计算过程在 y-x 图上直观地表示出来。

精馏段的操作线方程为：

$$y_{n+1}=\frac{R}{R+1}x_n+\frac{x_D}{R+1} \tag{4-55}$$

式中，y_{n+1} 为精馏段第 $n+1$ 块塔板上升的蒸汽组成，摩尔分数；x_n 为精馏段第 n 块塔板下流的液体组成，摩尔分数；x_D 为塔顶馏出液的液体组成，摩尔分数；R 为泡点回流下的回流比。

提馏段的操作线方程为：

$$y_{m+1}=\frac{L'}{L'-W}x_m-\frac{Wx_W}{L'-W} \tag{4-56}$$

式中，y_{m+1} 为提馏段第 $m+1$ 块塔板上升的蒸汽组成，摩尔分数；x_m 为提馏段第 m 块塔板下流的液体组成，摩尔分数；x_W 为塔底釜液的液体组成，摩尔分数；L' 为提馏段内下流的液体量，kmol/s；W 为釜液流量，kmol/s。

加料线（q 线）方程可表示为：

$$y=\frac{q}{q-1}x-\frac{x_F}{q-1} \tag{4-57}$$

$$q=1+\frac{c_{pF}(t_S-t_F)}{r_F}$$

式中，q 为进料热状况参数；r_F 为进料液组成下的汽化潜热，kJ/kmol；t_S 为进料液的泡点温度，℃；t_F 为进料液温度，℃；c_{pF} 为进料液在平均温度 $(t_S-t_F)/2$ 下的比热容，kJ/(kmol·℃)；x_F 为进料液组成，摩尔分数。

回流比 R 的确定：

$$R=\frac{L}{D} \tag{4-58}$$

式中，L 为回流液量，kmol/s；D 为馏出液量，kmol/s。

式(4-58) 只适用于泡点下回流时的情况，而实际操作时为了保证上升气流能完全冷凝，冷却水量一般都比较大，回流液温度往往低于泡点温度，即冷液回流。

如图 4-11 所示，从全凝器出来的温度为 t_R、流量为 L 的液体回流进入塔顶第一块板，由于回流温度低于第一块塔板上的液相温度，离开第一块塔板的一部分上升蒸汽将被冷凝成液体，这样，塔内的实际流量将大于塔外回流量。

对第一块板作物料、热量衡算，近似可得：

$$L_1\approx L\left[1+\frac{c_p(t_{1L}-t_R)}{r}\right] \tag{4-59}$$

即实际回流比：

$$R_1=\frac{L_1}{D} \tag{4-60}$$

$$=\frac{L\left[1+\frac{c_p(t_{1L}-t_R)}{r}\right]}{D} \tag{4-61}$$

式中，L_1为塔内实际液流量，kmol/s；r为回流液组成下的汽化潜热，kJ/kmol；c_p为回流液在t_{1L}与t_R平均温度下的平均比热容，kJ/(kmol·℃)。

(1) 全回流操作　在精馏全回流操作时，操作线在y-x图上为对角线，如图4-12所示，根据塔顶、塔釜的组成在操作线和平衡线间作梯级，即可得到理论塔板数。

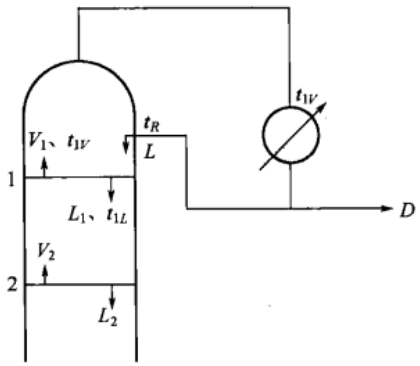


图4-11　塔顶回流示意图

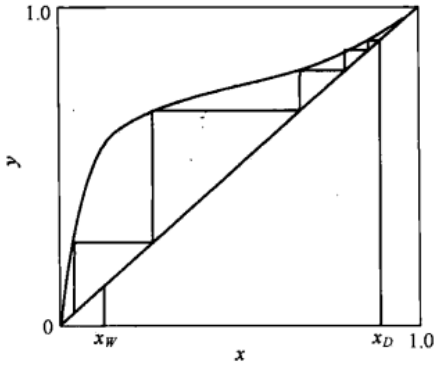


图4-12　全回流时理论板数的确定

(2) 部分回流操作　部分回流操作时，如图4-13所示，图解法的主要步骤如下所述。

① 根据物系和操作压力在y-x图上作出相平衡曲线，并画出对角线作为辅助线；

② 在x轴上定出$x=x_D$、x_F、x_W三点，依次通过这三点作垂线分别交对角线于点a、f、b；

③ 在y轴上定出$y_C=x_D/(R+1)$的点c，连接a、c作出精馏段操作线；

④ 由进料热状况求出q线的斜率$q/(q-1)$，过点f作出q线交精馏段操作线于点d；

⑤ 连接点d、b作出提馏段操作线；

⑥ 从点a开始在平衡线和精馏段操作线之间画阶梯，当梯级跨过点d时，则改在平衡线和提馏段操作线之间画阶梯，直至梯级跨过点b为止；

⑦ 所画的总阶梯数就是全塔所需的理论塔板数（包含再沸器），跨过点d的那块板就是加料板，其上的阶梯数为精馏段的理论塔板数。

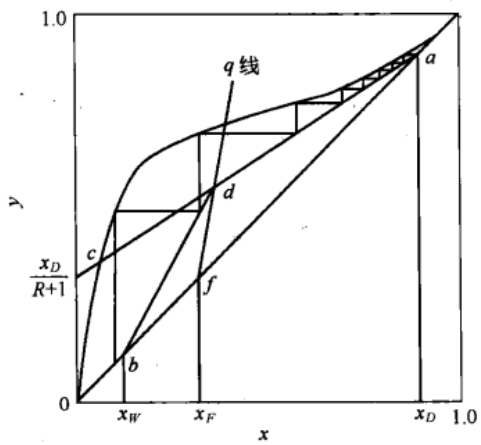


图4-13　部分回流时理论塔板数的确定

三、实验装置和流程

本实验装置的主体设备是筛板精馏塔，配套的有加料系统、回流系统、产品出料管路、残液出料管路、进料泵和一些测量、控制仪表。

筛板塔主要结构参数：塔内径 $D=68\text{mm}$，厚度 $\delta=2\text{mm}$，塔板数 $N=10$ 块，板间距 $H_T=100\text{mm}$。加料位置由下向上起数第 3 块和第 5 块。降液管采用弓形，齿形堰，堰长 56mm，堰高 7.3mm，齿深 4.6mm，齿数 9 个。降液管底隙 4.5mm。筛孔直径 $d_0=1.5\text{mm}$，正三角形排列，孔间距 $t=5\text{mm}$，开孔数为 74 个。塔釜为内电加热式，加热功率 2.5kW，有效容积为 10L。塔顶冷凝器、塔釜换热器均为盘管式。单板取样为自下而上第 1 块和第 10 块，斜向上为液相取样口，水平管为气相取样口。

本实验料液为乙醇水溶液，釜内液体由电加热器产生蒸气逐板上升，经与各板上的液体传质后，进入盘管式换热器管程，冷凝成液体后再从集液器流出，一部分作为回流液从塔顶流入塔内，另一部分作为产品馏出，进入产品贮罐；残液经釜液转子流量计流入釜液贮罐。精馏过程如图 4-14 所示。

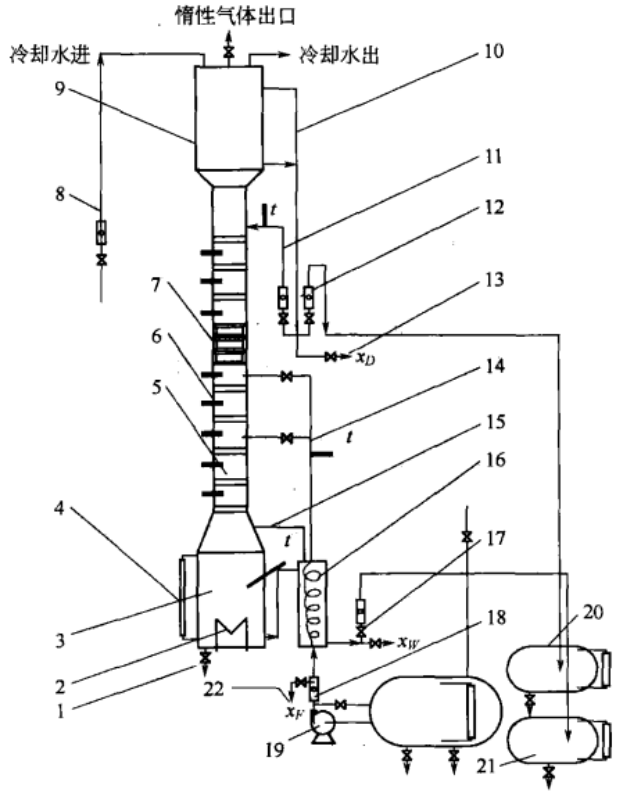


图 4-14　筛板塔精馏过程示意图

1—塔釜排液口；2—电加热器；3—塔釜；4—塔釜液位计；5—塔板；6—温度计（其余均以 t 表示）；7—窥视节；8—冷却水流量计；9—盘管冷凝器；10—塔顶平衡管；11—回流液流量计；12—塔顶出料流量计；13—产品取样口；14—进料管路；15—塔釜平衡管；16—盘管换热器；17—塔釜出料流量计；18—进料流量计；19—进料泵；20—产品贮槽；21—残液贮槽；22—料液取样口

四、实验步骤

1. 全回流

① 配制体积分数为 10%～20%的料液加入贮罐中，打开进料管路上的阀门，由进料泵将料液打入塔釜，至塔釜液位计 2/3 处即可。

② 关闭塔身进料管路上的阀门，启动电加热管电源，调节加热电压至适中位置，使塔釜温度缓慢上升（因塔中玻璃部分较为脆弱，若加热过快玻璃极易碎裂，使整个精馏塔报废，故升温过程应尽可能缓慢）。

③ 打开塔顶冷凝器的冷却水，调节适合流量，并关闭塔顶出料管路，使整塔处于全回流状态。

④ 当塔顶温度、回流量和塔釜温度稳定后，分别取塔顶浓度 x_D 和塔釜浓度 x_W 送样进行色谱分析。

2. 部分回流

① 在贮料罐中配制一定浓度的乙醇水溶液（约 10%～20%）。

② 待塔全回流操作稳定时，打开进料阀，调节进料量至适当的流量。

③ 控制塔顶回流和出料两转子流量计，调节回流比 R（$R=1\sim4$）。

④ 当塔顶、塔内温度读数稳定后即可取样。

3. 取样与分析

① 进料液、塔顶液、塔釜液从各自相应的取样阀放出。

② 将样品进行分析。

五、实验结果

1. 将塔顶、塔底温度和组成，以及各流量计读数等原始数据列表。
2. 按全回流和部分回流分别用图解法计算理论塔板数。
3. 计算全塔效率和单板效率。
4. 分析并讨论实验过程中观察到的现象。

六、注意事项

1. 塔顶放空阀一定要打开，否则塔内压力过大易造成危险。
2. 料液一定要加到设定液位 2/3 处方可打开加热管电源，否则塔釜液位过低会使电加热丝露出干烧致坏。

七、思考题

1. 测定全回流和部分回流总板效率与单板效率时各需测几个参数？取样位置在何处？
2. 全回流时测得板式塔上第 n、$n-1$ 层液相组成后，如何求得 x_n^*，部分回流时，又如何求 x_n^*？
3. 在全回流时，测得板式塔上第 n、$n-1$ 层液相组成后，能否求出第 n 层塔板上的以气相组成变化表示的单板效率？
4. 查取进料液的汽化潜热时定性温度取何值？
5. 若测得单板效率超过 100%，作何解释？
6. 试分析实验结果成功或失败的原因，提出改进意见。

实验七　填料塔精馏过程实验

一、实验目的

1. 了解填料精馏塔及其附属设备的基本结构，掌握精馏过程的基本操作方法。
2. 学会判断系统达到稳定的方法，掌握测定塔顶、塔釜溶液浓度的实验方法。

3. 掌握保持其他条件不变的情况下调节回流比的方法，研究回流比对精馏塔分离效率的影响。

4. 掌握用图解法求取理论塔板数的方法，并计算等板高度（HETP）。

二、实验原理

填料塔属连续接触式传质设备，填料精馏塔与板式精馏塔的不同之处在于塔内气液相浓度前者呈连续变化，后者呈逐级变化。等板高度（HETP）是衡量填料精馏塔分离效果的一个关键参数，HETP 越小，填料层的传质分离效果就越好。

1. 等板高度

与一层理论塔板的传质作用相当的填料层高度称为 HETP。它的大小不仅取决于填料的类型、材质与尺寸，而且受系统物性、操作条件及塔设备尺寸的影响。对于双组分体系，根据其物料关系 x_n，通过实验测得塔顶组成 x_D、塔釜组成 x_W、进料组成 x_F 及进料热状况 q、回流比 R 和填料层高度 Z 等有关参数，用图解法求得其理论板 N_T 后，即可用下式确定：

$$\mathrm{HETP}=Z/N_T \tag{4-62}$$

2. 图解法求理论塔板数以及全回流操作和部分回流操作内容请见实验六实验原理部分。

三、实验装置与流程

本实验装置的主体设备是填料精馏塔，加料系统、回流系统、产品出料管路、残液出料管路、进料泵和一些测量、控制仪表等都为其配套设备。

本实验料液为乙醇溶液，由进料泵打入塔内，釜内液体由电加热器加热汽化，经填料层内填料完成传质传热过程，进入盘管式换热器管程，壳层的冷却水全部冷凝成液体，再从集液器流出，一部分作为回流液从塔顶流入塔内，另一部分作为产品馏出，进入产品贮罐；残液经釜液转子流量计流入釜液贮罐。精馏过程如图 4-15 所示。

填料精馏塔主要结构参数：塔内径 D=68mm，塔内填料层总高 Z=2m（乱堆），填料为 θ 环。进料位置距填料层顶面 1.2m 处。塔釜为内电加热式，加热功率 2.5kW，有效容积为 9.8L。塔顶冷凝器为盘管式换热器。

四、实验步骤

1. 全回流

① 在料液罐中配制浓度为 10%～20%（酒精的体积分数）的料液，由进料泵打入塔釜中，至釜容积的 2/3 处，料液浓度以塔运行后取样口色谱分析为准。

② 检查各阀门位置处于关闭状态，启动电加热管电源，使塔釜温度缓慢上升。至窥视节内有液体回流，塔顶放空阀中也有液滴落下时，开冷却水水源，打开冷却水进出口阀门，通过水进口处转子流量计调节，使放空阀中液滴间断性的下落即可。建议冷却水流量为 40～60m^3/h 左右，过大则使塔顶蒸汽冷凝液溢流回塔内，过小则使塔顶蒸汽由放空阀直接大量溢出。

③ 当塔顶温度、回流量和塔釜温度稳定后，分别取塔顶浓度 x_D 和塔釜浓度 x_W，送色谱分析仪分析。

2. 部分回流

① 在贮料罐中配制 10%～20%的酒精水溶液。

② 待塔全回流操作稳定时，打开进料阀，调节进料量至适当的流量，建议为 10～16L/h。

③ 启动回流比控制器电源，设定回流比 R（R=1～4），调节塔顶回流液流量，建议为8～10L/h，打开塔釜回流转子流量计阀门。

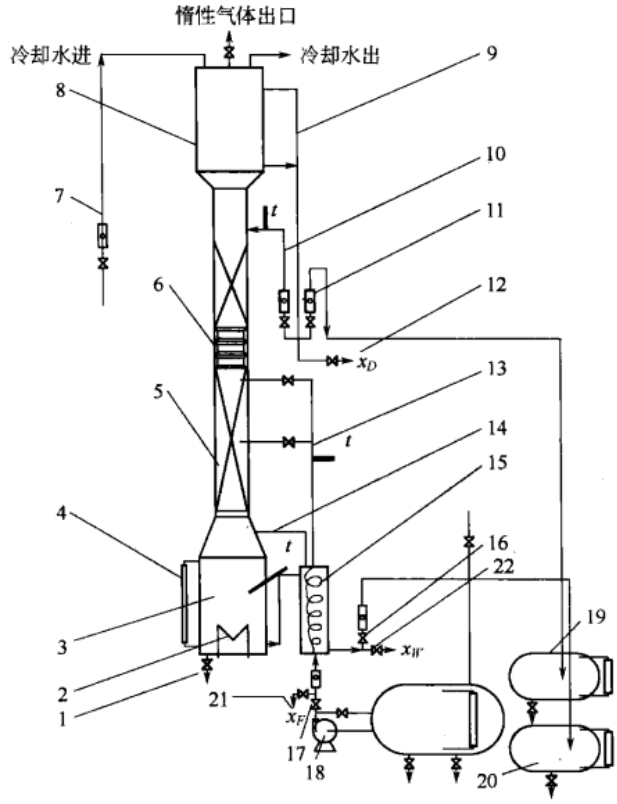


图 4-15　填料塔精馏过程示意图

1—塔釜排液口；2—电加热器；3—塔釜；4—塔釜液位计；5—θ 填料；6—窥视节；7—冷却水流量计；8—盘管冷凝器；9—塔顶平衡管；10—回流液流量计；11—塔顶出料流量计；12—产品取样口；13—进料管路；14—塔釜平衡管；15—盘管换热器；16—塔釜出料流量计；17—进料流量计；18—进料泵；19—塔顶产品贮槽；20—塔釜产品贮槽；21—料液取样口；22—塔釜产品取样口

④ 当塔顶、塔内温度读数稳定，各转子流量计读数稳定后即可取样。

3. 取样与分析

① 自进料、塔顶、塔釜部位从各自相应的取样阀放出取样。

② 取样前应先放空取样管路中残液，并给该瓶盖标号以免出错，各个样品尽可能同时取样。

③ 将样品进行分析。

五、实验结果

1. 将塔顶、塔底温度和组成，以及各流量计读数等原始数据列表。
2. 按全回流和部分回流分别用图解法计算理论塔板数。
3. 计算等板高度（HETP）。
4. 分析并讨论实验过程中观察到的现象。

六、注意事项

1. 塔顶放空阀一定要打开，否则容易因塔内压力过大导致危险。

2. 料液一定要加到设定液位 2/3 处方可打开加热管电源，否则塔釜液位过低会使电加热丝露出干烧致坏。

七、思考题

1. 欲知全回流与部分回流时的等板高度，各需测取哪几个参数？取样位置应在何处？

2. 试分析实验结果成功或失败的原因，提出改进意见。

实验八　液-液转盘萃取实验

一、实验目的

1. 了解转盘萃取塔的基本结构、操作方法及萃取的工艺流程。

2. 观察转盘转速变化时，萃取塔内轻、重两相流动状况，了解萃取操作的主要影响因素，研究萃取操作条件对萃取过程的影响。

3. 掌握每米萃取高度的传质单元数 N_{OR}、传质单元高度 H_{OR} 和萃取率 η 的实验测定法。

二、基本原理

萃取是分离和提纯物质的重要单元操作之一，混合物中各个组分在外加溶剂中的溶解度不同，该单元操作就是利用混合物的该特点实现组分分离的。使用转盘塔进行液-液萃取操作时，两种液体在塔内作逆流流动，其中一相液体作为分散相，以液滴形式通过另一种连续相液体，两种液相的浓度则在设备内作微分式的连续变化，并依靠密度差在塔的两端实现两液相间的分离。当轻相作为分散相时，相界面出现在塔的上端；反之，当重相作为分散相时，则相界面出现在塔的下端。

1. 传质单元法的计算

计算微分逆流萃取塔的塔高时，主要是采取传质单元法。即以传质单元数和传质单元高度来表示，传质单元数表示过程分离程度的难易，传质单元高度表示设备传质性能的好坏。

$$H = H_{OR} N_{OR} \tag{4-63}$$

式中，H 为萃取塔的有效接触高度，m；H_{OR} 为以萃余相为基准的总传质单元高度，m；N_{OR} 为以萃余相为基准的总传质单元数，无量纲。

按定义，N_{OR} 计算式为

$$N_{OR} = \int_{x_R}^{x_F} \frac{\mathrm{d}x}{x - x^*} \tag{4-64}$$

式中，x_F 为原料液的组成，kg/kg；x_R 为萃余相的组成，kg/kg；x 为塔内某截面处萃余相的组成，kgA/kgS；x^* 为塔内某截面处与萃取相平衡时的萃余相组成，kgA/kgS。

当萃余相浓度较低时，平衡曲线可近似为过原点的直线，操作线也简化为直线处理，如图 4-16 所示。

则积分式(4-64) 得

$$N_{OR} = \frac{x_F - x_R}{\Delta x_m} \tag{4-65}$$

式中，Δx_m 为传质过程的平均推动力，在操作线、平衡线作直线近似的条件下为

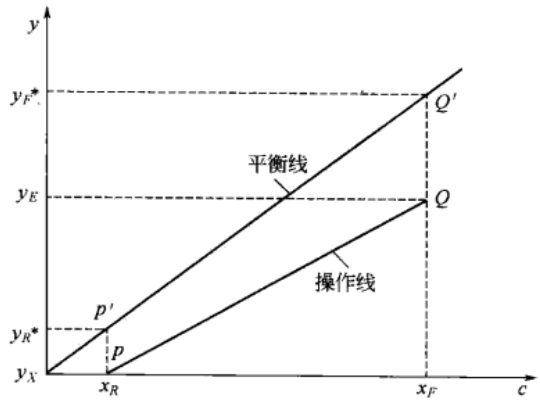


图 4-16　萃取平均推动力计算示意图

$$\Delta x_m=\frac{(x_F-x^*)-(x_R-0)}{\ln\dfrac{(x_F-x^*)}{(x_R-0)}}=\frac{(x_F-y_E/k)-x_R}{\ln\dfrac{(x_F-y_E/k)}{x_R}} \tag{4-66}$$

式中，k 为分配系数，例如对于本实验的煤油苯甲酸相-水相，$k=2.26$；y_E 为萃取相的组成，kgA/kgS。

对于 x_F、x_R 和 y_E，分别在实验中通过取样滴定分析而得，y_E 也可通过如下的物料衡算而得

$$F+S=E+R$$

$$F\cdot x_F+S\cdot 0=E\cdot y_E+R\cdot x_R \tag{4-67}$$

式中，F 为原料液流量，kg/h；S 为萃取剂流量，kg/h；E 为萃取相流量，kg/h；R 为萃余相流量，kg/h。

对稀溶液的萃取过程，因为 $F=R$，$S=E$，所以有

$$y_E=\frac{F}{S}(x_F-x_R) \tag{4-68}$$

本实验中，取 $F/S=1/1$（质量流量比），则式(4-68) 简化为

$$y_E=x_F-x_R \tag{4-69}$$

2. 萃取率的计算

萃取率 η 为被萃取剂萃取的组分 A 的量与原料液中组分 A 的量之比

$$\eta=\frac{F\cdot x_F-R\cdot x_R}{F\cdot x_F} \tag{4-70}$$

对稀溶液的萃取过程，因为 $F=R$，所以有

$$\eta=\frac{x_F-x_R}{x_F} \tag{4-71}$$

3. 组成浓度的测定

对于煤油苯甲酸相-水相体系，采用酸碱中和滴定的方法测定进料液组成 x_F、萃余液组成 x_R 和萃取液组成 y_E，即苯甲酸的质量分数，具体步骤如下。

① 用移液管量取待测样品 25mL，加 1～2 滴溴百里酚蓝指示剂。

② 用 KOH-CH_3OH 溶液滴定至终点，则所测浓度为

$$x=\frac{N\Delta V\times 122}{25\times 0.8} \tag{4-72}$$

式中，N 为 KOH-CH_3OH 溶液的浓度，mol/L；ΔV 为滴定用去的 KOH-CH_3OH 溶液体积量，mL；苯甲酸的分子质量为 122g/mol，煤油密度为 0.8g/mL，样品量为 25mL。

③ 萃取相组成 y_E 也可按式(4-69) 计算得到。

三、实验装置与流程

实验装置与流程如图 4-17 所示。

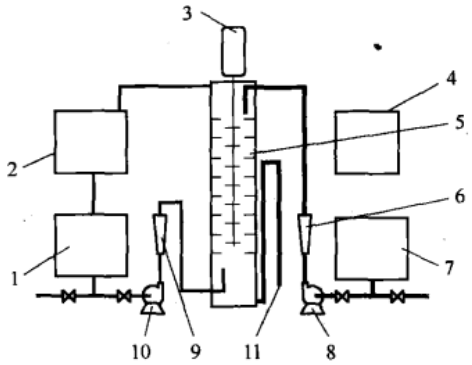


图 4-17　萃取流程示意图

1—轻相槽；2—萃余相（回收槽）；3—电机搅拌系统；4—电器控制箱；5—萃取塔；6—水流量计；7—重相槽；8—水泵；9—煤油流量计；10—煤油泵；11—萃取相导出

本装置操作时应先在塔内灌满连续相——水，然后开启分散相——煤油（含有饱和苯甲酸），待分散相在塔顶凝聚一定厚度的液层后，通过连续相的 II 管闸阀调节两相的界面于一定高度，对于本装置采用的实验物料体系，凝聚是在塔的上端进行（塔的下端也设有凝聚段）。本装置外加能量的输入，可通过直流调速器来调节中心轴的转速。

四、实验步骤

1. 将煤油配制成含苯甲酸的混合物（配制成饱和或近饱和），然后灌入轻相槽内。注意：勿直接在槽内配置饱和溶液，防止固体颗粒堵塞煤油输送泵的入口。

2. 接通水管，将水灌入重相槽内，用磁力泵将它送入萃取塔内。

3. 通过调节转速来控制外加能量的大小，在操作时转速逐步加大，中间会跨越一个临界转速（共振点），一般实验转速可取 500r/min。

4. 水在萃取塔内连续搅拌流动 5min 后，开启分散相——煤油管路，调节两相的体积流量至 20～40L/h，根据实验要求将两相的质量流量比调为 1∶1。注：在进行数据计算时，对煤油转子流量计测得的数据要校正，即煤油的实际流量应为 $V_{校}=\sqrt{\frac{1000}{800}}V_{测}$，其中 $V_{测}$ 为煤油流量计上的显示值。

5. 待分散相在塔顶凝聚一定厚度的液层后，再通过连续相出口管路中 II 形管上的阀门开度来调节两相界面高度，操作中应维持上集液板中两相界面的恒定。

6. 通过改变转速来分别测取效率 η 或 H_{OR}，从而判断外加能量对萃取过程的影响。

7. 取样分析。采用酸碱中和滴定的方法测定进料液组成 x_F、萃余液组成 x_R 和萃取液组成 y_E，即苯甲酸的质量分数，具体步骤如基本原理中所述。

五、实验结果

1. 测定不同转速下的萃取效率以及传质单元高度。

2. 以煤油为分散相，水为连续相，进行萃取过程的操作。实验数据记录见表 4-8。氢氧化钾的摩尔浓度 c_{KOH} = _____ mol/L。

表 4-8 实验数据记录

编号	原料 F/(L/h)	溶剂 S/(L/h)	转速 n	$F\Delta V_F$ (以 KOH 计)/mL	$R\Delta V_R$ (以 KOH 计)/mL	$S\Delta V_S$ (以 KOH 计)/mL
1						
2						
3						
4						

数据处理见表 4-9。

表 4-9 数据处理

编 号	转速 n	萃余相浓度 x_R	萃取相浓度 y_E	平均推动力 Δx_m	传质单元数 N_{OR}	传质单元高度 H_{OR}	效率 η
1							
2							
3							
4							

六、注意事项

注意：磁力泵切不可空载运行。

七、思考题

1. 试比较分析萃取实验装置与吸收、精馏实验装置的异同点？

2. 如何调节和测量本萃取实验装置的转盘转速？从实验结果分析转盘转速变化对萃取传质系数与萃取率的影响。

3. 哪些方法可以测定原料液、萃取相、萃余相的组成？采用中和滴定法时，标准碱为什么选用 KOH-CH_3OH 溶液，而不选用 KOH-H_2O 溶液？

第五章　食品分析实验指导

实验一　食品的物理检验实验

一、食品的密度测定实验

1. 比重瓶法

(1) 实验目的

① 掌握应用比重瓶法测定液态食品密度的方法。

② 了解比重瓶法测定密度的原理。

(2) 实验原理　密度是指某一物质的质量与同体积、同温度纯水质量的比值，用 d_t^t 表示；20℃时的密度用 d_{20}^{20} 表示。也可用某一物质的质量与同体积4℃水的质量的比值，用 d_4^{20} 表示。

在一定温度下，利用同一比重瓶分别称取等体积的样品和纯水的质量，两者之比即为该样品的密度。本法适用于液体食品密度的测定。

(3) 实验材料与仪器

① 样品。根据不同需要选择被检样品，如鲜奶、酱油、醋、啤酒等。

② 器材。精密比重瓶：附温度计，有精密比重瓶（图5-1）与普通比重瓶之分。恒温水浴锅。分析天平。

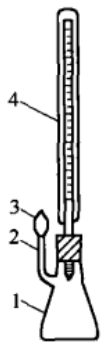


图5-1　精密比重瓶
1—比重瓶；2—支管；3—支管小帽；4—温度计

(4) 实验步骤　取洁净、干燥、已准确称量的比重瓶，注满样品后，装上温度计，置20℃水浴中浸0.5h；待内容物的温度达到20℃，盖好瓶盖，用细滤纸条吸去支管标线上的样品，立即盖上支管小帽并取出。用滤纸将比重瓶外擦干后，置天平室内0.5h，称量。再将样品倾出，洗净比重瓶后，注满水，以下按上述自“置20℃水浴中浸0.5h”起依法操作，即得20℃时水的质量。

(5) 实验结果

$$\text{样品的密度}=\frac{m_2-m_0}{m_1-m_0}$$

式中，m_0 为比重瓶的质量，g；m_1 为比重瓶和水的质量，g；m_2 为比重瓶和样品的质量，g。

(6) 注意事项

① 本方法适用于测定各种液态食品的相对密度。糖或其他黏稠液体的测定，宜采用具有毛细管的比重瓶。

② 瓶内不得有气泡，也不要用手直接接触密度瓶球部，以免液体受热流出；天平室内温度不能超过20℃，否则不能用此法。

③ 水浴中的水必须清洁无油污，防止污染瓶外壁。

2. 比重天平法

(1) 实验目的

① 掌握应用比重天平法测定液态食品密度的方法。

② 熟悉韦氏比重天平的使用操作方法。

(2) 实验材料与仪器

① 样品。根据不同需要选择被检样品，如鲜奶、酱油、醋、啤酒等。

② 器材。韦氏比重天平，如图 5-2 所示。

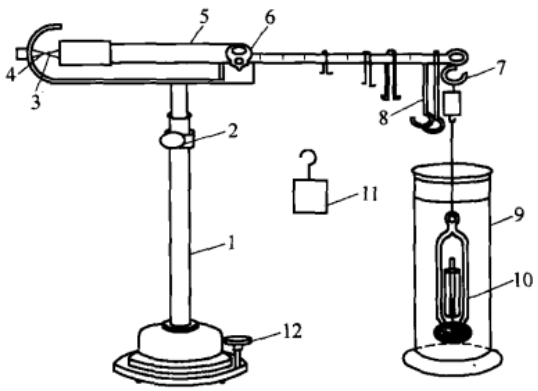


图 5-2 韦氏比重天平

1—支架；2—升降调节旋钮；3，4—指针；5—横梁；6—刀口；7—挂钩；8—游码；9—玻璃圆筒；10—玻锤；11—砝码；12—调零旋钮

横梁 5 的右端等分为 10 个刻度，玻锤 10 在空气中质量准确为 15g，内附温度计；温度计上有一道红线或一道较粗的黑线，用来表示在此温度玻锤能准确排开 5g 水重。此比重天平为水在该温度时的相对密度为 1。玻璃圆筒用来盛样品。砝码 11 的质量与玻锤相同，用来在空气中调节比重天平的零点。游码组 8 本身质量为 5g、0.5g、0.05g、0.005g，在放置横梁上时，表示质量的比例为 0.1、0.01、0.001、0.0001。如 0.1 的放在横梁 8 处即表示 0.8，0.01 放在 9 处即表示 0.09，余类推

(3) 实验步骤 将支架置于平面桌上，横梁架于刀口处，挂钩处挂上砝码，调节升降旋钮至适宜高度，旋转调零旋钮，使两指针吻合。然后取下砝码，挂上玻锤，于玻璃圆筒内加水至 4/5 处，使玻锤沉于玻璃圆筒内，调节水温至 20℃（即玻锤内温度计指示温度）。将 0.1 的游码挂在横梁的刻度处，再调节调零旋钮使两指针吻合，然后将玻锤取出擦干。加待测样品于干净圆筒内，使玻锤浸入至以前相同的深度，保持样品温度在 20℃，试放四种游码，至横梁上两指针吻合，游码所表示的总质量即为 20℃时的密度。

(4) 注意事项

① 本法控制温度一定要准确，以保证测定结果的准确性。

② 玻锤放入圆筒内时，勿使碰及圆筒四周及底部。

3. 比重计法

(1) 实验目的 掌握比重计法测定液态食品密度的方法。

(2) 实验原理 根据阿基米得原理，比重计的质量等于它排开液体的质量，液体的密度越大，则比重计浸入的体积就越小，从比重计上直接读取液态食品的密度。

(3) 实验材料与仪器

① 样品。根据不同需要选择被检样品，如鲜奶、酱油、醋、啤酒等。

② 器材。比重计：上部细管上有刻度，表示比重读数；下部球形内部装有汞或铅块。250mL 或 500mL 量筒。

(4) 实验步骤　将比重计洗净擦干，缓缓放入盛有待测液体样品的适当量筒（250mL或500mL）中，勿使碰及圆筒四周及底部，保持样品温度在20℃，待其静止后，再轻轻按下少许，然后待其自然上升，静置并无气泡冒出后，从水平位置读取与液面相交处的刻度，即为样品的密度。

(5) 注意事项

① 本法操作简便迅速，但准确性较差，而且样液量多，且不适用于极易挥发的样液。

② 操作时应注意不要让比重计接触量筒的壁及底部，待测液中不得有气泡。

③ 读数时以比重计与液体形成的弯月面的下缘为准。若液体颜色较深，不易看清弯月面下缘时，则以弯月面的上缘为准。

4. 牛乳密度的测定

(1) 实验目的

① 掌握牛乳密度的简易测定方法。

② 了解乳稠计的类型及区别。

(2) 实验材料与仪器

① 样品。鲜牛乳。

② 器材。乳稠计：适用于牛乳相对密度的测定。乳稠计有20℃/4℃及15℃/15℃两种，后者较前者的测定结果高0.002，即 $d_{15}^{15}=d_4^{20}+0.002$。以20℃/4℃为标准，测定范围为1.015～1.045。250mL量筒。温度计。

(3) 实验步骤　将温度为20℃左右的牛乳样品约200mL缓慢地注入250mL量筒内（沿筒壁注入，以免产生泡沫），然后将乳稠计轻轻插入量筒内的牛乳中心，使乳稠计慢慢下沉（注意勿使乳稠计的重锤与量筒壁相撞），静置1～3min后，读取乳稠计上的刻度；同时测量牛乳的温度。如果温度不是20℃，需进行校正，温度每比20℃高出1℃，要在乳稠计的读数上加0.2°；温度低于20℃时，每低1℃需减去0.2°（正常牛乳的密度为1.028～1.032，平均1.030。若测得牛乳的密度<1.028，则为掺水乳；若测得牛乳的密度>1.032，则为脱脂乳）。

【例】 温度16℃时测得乳稠计读数为31°，则校正到20℃时乳稠计的读数应为：

$$31°-(20-16)\times 0.2°=31°-0.8°=30.2°$$，相当于密度为1.0302。

温度25℃时测得乳稠计读数为29.8°，则校正到20℃时应为：

$$29.8°+(25-20)\times 0.2°=29.8°+1.0°=30.8°$$，即相当于密度为1.0308。

二、折光法测定脂肪含量实验

1. 实验目的

① 掌握液态食品折射率的测定方法。

② 了解折光法测定食品中脂肪含量的方法和原理。

③ 熟悉阿贝折光仪的使用方法。

2. 实验原理

本法是基于脂肪与溶剂在折射率上具有显著的差异来测定脂肪含量的。用α-溴代萘作为溶剂，此溶剂在常温下极易溶解油，并具有高沸点（280℃）和高折射率。在溶解油后，α-溴代萘的折射率下降，其降低值与溶解油的量成正比。

3. 实验材料与仪器

(1) 样品　将黄豆或花生粉碎，并烘干。

(2) 试剂　α-溴代萘，石油醚或乙醚。

(3) 器材

① 阿贝折光仪。

② 移液管：由橡皮球、弯形玻璃管、脱脂棉、过滤器等组成。移液管小球直径 10～14mm，小球一侧管长 80～100mm、另一侧长 15～20mm，并弯成 60°～70°，移液管口内径为 3mm。在使用前取一小束脱脂棉顺着纤维拉直并对折塞进移液管口，纤维末梢朝外，用剪刀在距管口 2～3mm 处剪去。移液管上端连有橡皮球，用手压缩橡皮球，将脱脂棉过滤器浸透液体，放开手压橡皮球，造成真空，待慢慢吸取所需量液体后，取下橡皮球和脱脂棉过滤器。

③ 乳钵，天平。

4. 实验步骤

将样品干燥粉碎并在 105℃下烘干 2～3h，按表 5-1 的量称取烘干粉碎的样品以及加入 α-溴代萘溶剂，使样品质量与溶剂体积比保持一定（0.75）。

表 5-1 称样量及加入溶剂量

样品量/g	0.30	0.60	0.90	1.20	1.50
α-溴代萘量/mL	0.40	0.80	1.20	1.60	2.00

用玻璃棒小心研磨（不使样品溶液沾在研钵壁上），研磨至均匀，放置 3～5min，再研磨一次；然后用带脱脂棉过滤器的移液管吸取数滴溶液，在 20℃左右温度下测定折射率。如果温度比 20℃高或低，则 1℃加或减 0.0004 的校正值。

5. 实验结果

根据测得的折射率代入下式即可计算样品的含油量。

$$\text{样品含油量}(\%)=\frac{Vd_1}{m}\times\frac{n-n_1}{n_2-n_1}\times 100$$

式中，d_1 为油的相对密度；V 为 α-溴代萘的体积，mL；m 为样品质量，g；n 为 α-溴代萘的折射率；n_1 为油的折射率；n_2 为样品混合液的折射率。

三、旋光法测定粗淀粉含量实验

1. 实验目的

① 掌握旋光法测定食品中粗淀粉含量的方法和原理。

② 了解旋光仪的使用方法。

2. 实验原理

在加热及稀盐酸的作用下，淀粉水解并转入盐酸溶液中；在一定的水解条件下，不同作物淀粉的比旋光 $[\alpha]_D^{20}$ 是不同的，其数值为 171～195。

3. 实验材料与仪器

（1）样品　作物的种子（小麦、稻谷等）。

（2）试剂　0.32mol/L 盐酸：需要标定，准确配制。30%硫酸锌溶液。15%的亚铁氰化钾溶液。

（3）器材　旋光仪，水浴锅，粉碎机，分样筛（40 目），天平。其他器材：50mL 容量瓶、量筒、1mL 吸管、漏斗、滤纸。

4. 实验步骤

将样品种子粉碎过 40 目筛，称取 2.50g，移入 50mL 容量瓶中，加入 25mL 0.32mol/L 盐酸溶液，开始时先加入少量振荡，使样品全部浸湿，然后用此溶液将瓶壁上的颗粒洗下。将容量瓶置于沸水浴中，在沸腾状态保持 15min 后取出，迅速冷却至室温。

加 1mL 30%硫酸锌溶液，摇匀后加入 1mL 亚铁氰化钾溶液，以沉淀蛋白质；用蒸馏水定容，上清液过滤，滤液装入旋光管中，立即在旋光仪上进行测定，平行测定两次。

5. 实验结果

$$样品中淀粉含量(\%)=\frac{\alpha V}{m[\alpha]_D^t L}\times 100$$

式中，α 为在旋光仪上测得的旋光度；V 为样液的总体积，mL；m 为样品质量，g；$[\alpha]_D^t$ 为淀粉因数；L 为旋光管的长度，dm。

【附】 折光仪的校准及使用方法

1. 折光仪的校准

通常用测定蒸馏水折射率（附表 5-1）的方法来进行校正，即在标准温度（20℃）下折光仪应表示出折射率为 1.33299 或 0%可溶性固形物。若温度不在 20℃时，折射率亦有所不同。然后借助仪器上特有的校正螺旋，将其调整到正确读数。

附表 5-1 蒸馏水的折射率

温度/℃	纯水折射率	温度/℃	纯水折射率	温度/℃	纯水折射率	温度/℃	纯水折射率
10	1.33371	15	1.33339	20	1.33299	25	1.33253
11	1.33363	16	1.33332	21	1.33290	26	1.33242
12	1.33359	17	1.33324	22	1.33281	27	1.33231
13	1.33353	18	1.33316	23	1.33272	28	1.33220
14	1.33346	19	1.33307	24	1.33263	29	1.33208

2. 阿贝折光仪的使用方法

① 分开两棱镜，以脱脂棉球蘸取乙醇擦净，挥发干乙醇。滴 1～2 滴样液于下面棱镜的平面中央，迅速闭合两棱镜，调节反光镜，使两镜筒内视野最亮。

② 由目镜观察，转动棱镜旋钮，使视野出现明暗两部分。

③ 转动色散补偿器旋钮，使视野中只有黑白两色。

④ 转动棱镜旋钮，使明暗分界线在十字线交叉点上。

⑤ 从读数镜筒中读取折射率值。

⑥ 测定样液的温度。

⑦ 打开棱镜，用蒸馏水、乙醇或乙醚擦净棱镜表面及其他各机件。

实验二 食品中水分含量的测定

一、直接干燥法（常压干燥法）

1. 实验目的

① 掌握常压干燥法测定食品中水分含量的原理和方法。

② 熟练掌握分析天平的操作方法。

2. 实验原理

食品中的水分是指在 100℃左右直接干燥的情况下，所失去物质的总量。但实际上，在此温度下所失去的是挥发性物质的总量，而不完全是水。因此，直接干燥法适用于不含或含其他挥发性物质甚微的各类食品中水分含量的测定。

3. 实验材料

(1) 试剂

① 6mol/L 盐酸。量取 100mL 盐酸，加水稀释至 200mL。

② 6mol/L 氢氧化钠溶液。称取 24g 氢氧化钠，加水溶解并稀释至 100mL。

③ 海沙。取用水洗去泥土的海沙或河沙，先用 6mol/L 盐酸煮沸 0.5h，用水洗至中性；再用 6mol/L 氢氧化钠溶液煮沸 0.5h，用水洗至中性，经 105℃干燥备用。

(2) 器材　扁形称量瓶，恒温干燥箱，分析天平，玻璃干燥器。

4. 实验步骤

(1) 固体样品　取洁净铝制或玻璃制的扁形称量瓶，置于 95～105℃干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，加热 0.5～1h，取出盖好，置干燥器内冷却 0.5h，称量，并重复干燥至恒重。精密称取 2～10g 切碎或磨细的样品，放入已干燥的称量瓶中，样品厚度约为 5mm，加盖；精密称量后，置 95～105℃干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，干燥 2～4h 后，取出盖好，放入干燥器内冷却 0.5h 后称量。然后再放入 95～105℃干燥箱中干燥 1h，取出置干燥器内冷却 0.5h 后再称量。至前后两次质量差不超过 2mg，即为恒重。

(2) 半固体或液体样品　取洁净蒸发皿，内加 10.0g 海沙及一根小玻棒，置于 95～105℃干燥箱中，干燥 0.5～1.0h 后取出，放入干燥器内冷却 0.5h 后称量，并重复干燥至恒重。然后精密称取 5～10g 样品，置于蒸发皿中，用小玻棒搅匀放在沸水浴上蒸干，并随时搅拌；擦去皿底的水滴，置 95～105℃干燥箱中干燥 4h 后盖好取出，放入干燥器内冷却 0.5h 后称量。然后再放入 95～105℃干燥箱中干燥 1h，取出置干燥器内冷却 0.5h 后再称量，直至恒重。

5. 实验结果

$$\text{样品中水分含量}(\%)=\frac{m_1-m_2}{m_1-m_3}\times 100$$

式中，m_1 为称量瓶（或蒸发皿加海沙、玻棒）和样品的质量，g；m_2 为称量瓶（或蒸发皿加海沙、玻棒）和样品干燥后的质量，g；m_3 为称量瓶（或蒸发皿加海沙、玻棒）的质量，g。

6. 注意事项

① 由于常压干燥法不能完全排出食品中的结合水，同时食品中或多或少都含有易挥发性物质，因此本法不可能测出食品中真正的水分。

② 用干燥箱加热时，应先从 60～70℃开始，然后再升至 105℃。

③ 牛乳、乳酪等含脂肪较多的样品，常因氧化而质量增加，故宜于 100℃干燥。

④ 为了加快水分的蒸发速度，可选用以下措施：

a. 取样量尽量少；b. 样品尽量剪碎；c. 选用浅底宽面的称量瓶；d. 样品铺层尽量薄；e. 烘烤过程中适时翻动搅拌。

⑤ 加热干燥是基于食品中的水分受热后产生的蒸汽压高于干燥箱中的分压，物质干燥的速度取决于这个压差的大小。

⑥ 本法不适用于胶体或半胶体状态的食品，也不适用于高脂肪、高糖食品以及含有较多在高温中易氧化和易挥发物质的食品。

二、减压干燥法（真空干燥法）

1. 实验目的

① 掌握真空干燥法测定食品中水分含量的原理和方法。

② 熟悉真空干燥箱的使用方法。

2. 实验原理

食品中的水分是指在一定的温度及压力的情况下失去物质的总量。减压干燥法采用“低温、低压”的条件处理样品，不仅可降低水的沸点、加速脱水干燥速度，而且可减少样品中挥发性物质的损失、防止脂肪氧化等。减压干燥法适用于含糖、味精等易分解的食品。

3. 实验材料与仪器

真空干燥箱，扁形称量瓶，分析天平，玻璃干燥器。

4. 实验步骤

取洁净铝制或玻璃制的扁形称量瓶，置于95～105℃干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，加热0.5～1h，取出盖好，置干燥器内冷却0.5h，称量，并重复干燥至恒重。精密称取2～10g切碎或磨细的样品，放入已干燥的称量瓶中，样品厚度约为5mm，加盖；精密称量后，置真空干燥箱内。将干燥箱连接好水泵或真空泵，抽出干燥箱内空气至所需压力（一般为300～400mmHg●），并同时加热至所需温度（50～60℃）；关闭通水泵或真空泵的活塞，停止抽气，使干燥箱内保持一定的温度与压力。经过一定时间后，打开活塞，使空气经干燥装置缓缓进入干燥箱内，待压力恢复正常后再打开箱门。取出称量瓶，置于干燥器中0.5h后称量，并重复以上操作至恒重。

5. 实验结果

同直接干燥法。

6. 注意事项

① 减压干燥法能加快水分的去除，且操作温度较低，大大减少了样品氧化或分解的影响，可得到较准确的结果。

② 减压干燥法选择的压力一般为40～53kPa，温度为50～60℃；但实际应用时可根据样品性质及干燥箱耐压能力不同而调整压力和温度，如AOAC法中咖啡的干燥条件为3.3kPa和98～100℃，乳粉为13.3kPa和100℃，干果为1333kPa和70℃，糖和蜂蜜为6.7kPa和60℃。

③ 减压干燥时，自干燥箱内部压力降至规定真空度时起计算干燥时间，一般每次烘干时间为2h，但有的样品需5h。

三、蒸馏法

1. 实验目的

① 掌握蒸馏法测定食品中水分含量的原理和方法。

② 熟悉水分测定器的使用方法。

2. 实验原理

食品中的水分与甲苯或二甲苯共同蒸出，收集馏出液于接收管内，根据馏出液中水分体积计算含量。本法适用于测定含较多挥发性物质的食品，如干果、油脂、香辛料等。

3. 实验材料与仪器

（1）试剂　甲苯或二甲苯：取甲苯或二甲苯，先以水饱和后，分去水层，进行蒸馏，收集馏出液备用。

（2）器材　水分测定器，可调电炉。

4. 实验步骤

称取适量样品（估计含水2～5mL），放入250mL蒸馏瓶中，加入新蒸馏的甲苯（或二甲苯）75mL，连接好冷凝管与水分接收管，从冷凝管上端注入甲苯，装满水分接收管。

加热慢慢蒸馏，馏出速度约为2滴/s，待大部分水分蒸出后，加速蒸馏至4滴/s。当水分全部蒸出后，集水管内的水分体积不再增加时，从冷凝管上端加入甲苯冲洗；如冷凝管内壁附有水滴，可用附有小橡皮头的铜丝擦下。再蒸馏片刻，至无水滴附着管壁为止，读取集水管水层的体积。

5. 实验结果

● 1mmHg=133.322Pa。

样品中的水分含量(mL/100g)$=V/m\times100$

式中，V 为集水管内水的体积，mL；m 为样品的质量，g。

6. 注意事项

① 蒸馏法是利用所加入的有机溶剂与水分形成共沸混合物而降低沸点，样品的性质是选择溶剂的重要依据。对热不稳定的样品，一般不用二甲苯。对于一些含有糖分、可分解释放出水分的样品（如某些脱水蔬菜等），宜选用低沸点的苯作溶剂，但蒸馏时间将延长。

② 称样量。称取的试样量应适当，控制其含水量为 2～5mL（必须少于 10mL）。一般谷类、豆类约 20g，鱼、肉、蛋、乳制品 5～10g，水果、蔬菜约 5g。

③ 蒸馏结束后，从冷凝管上端加入有机溶剂冲洗，以冲下附着在冷凝器下端及刻度管上部内壁的水滴。如果仍有水滴附着，可用附有小橡皮头的铜丝擦下。

④ 馏出液若为乳浊液，可添加少量戊醇、异丁醇。

⑤ 对富含糖分或蛋白质的样品，适宜的方法是将样品分散涂布于硅藻土上；对热不稳定的食品，除选用低沸点的溶剂外，也可将样品分散涂布于硅藻土上。

实验三　食品总灰分的测定

一、实验目的

1. 掌握测定食品总灰分的原理和方法。
2. 掌握样品高温灰化的方法以及加速灰化的方法。

二、实验原理

把一定量的样品经炭化后放入高温炉内灼烧，使有机物质被氧化分解，以二氧化碳、氮的氧化物及水等形式逸出，而无机物质则以硫酸盐、磷酸盐、碳酸盐、氯化物等无机盐和金属氧化物的形式残留下来，这些残留物即为灰分。称量残留物的质量即可计算出样品中总灰分的含量。

三、实验材料与仪器

1. 试剂

0.5%三氯化铁溶液和等量蓝墨水的混合液。

2. 器材

高温炉，瓷坩埚，坩埚钳，干燥器，分析天平，电炉或煤气灯。

四、实验步骤

1. 坩埚的准备

取大小适宜的瓷坩埚，用三氯化铁与蓝墨水的混合液在外壁及盖上写下编号，置于高温炉中，在 600℃下灼烧 0.5h，冷至 200℃以下取出，放入干燥器中冷至室温后精密称量；并重复灼烧直至恒重。

2. 样品的准备

于恒重的坩埚中加入 2～3g 粉碎均匀的固体样品或 5～10g 液体样品，精密称量。液体样品须先在沸水浴上蒸干。

3. 灰化

将盛装样品的坩埚置于电炉或煤气灯上，小火加热使样品充分炭化至无烟，然后移入高温

炉中，在550～600℃灼烧至灰中无炭粒存在，即灰化完全。冷至200℃以下后取出，放入干燥器中冷至室温，精密称量。重复灼烧至前后两次称量相差不超过0.5mg为恒重。

五、实验结果

$$样品中灰分含量(\%)=\frac{m_1-m_2}{m_3-m_2}\times 100$$

式中，m_1 为坩埚和灰分的质量，g；m_2 为坩埚的质量，g；m_3 为坩埚和样品的质量，g。

六、注意事项

1. 炭化时，应避免样品明火燃烧而导致微粒喷出，只有在炭化完全，即不冒烟后才能放入高温电炉中。

2. 对于含糖分、淀粉、蛋白质较高的样品，为防止其发泡溢出，炭化前可加数滴纯植物油。

3. 把坩埚放入高温炉或从炉中取出时，要放在炉口停留片刻，使坩埚预热或冷却，防止因温度剧变而使坩埚破裂。

4. 灼烧温度不能超过600℃，否则会造成钾、钠、氯等易挥发成分的损失。

实验四　食品总酸度及有效酸度的测定

一、食品总酸度的测定

1. 实验目的

掌握食品总酸度的测定方法和原理。

2. 实验原理

总酸度是指所有酸性成分的总量。以酚酞作指示剂，用强碱标准溶液滴定至微红色30s不褪色为终点；由消耗标准碱液的体积求出样品中酸的百分含量。本方法适用于各类浅色食品中总酸含量的测定。

3. 实验材料与仪器

(1) 试剂

① 1%酚酞乙醇溶液。称取酚酞1g，溶解于100mL 95%乙醇中。

② 0.1mol/L氢氧化钠标准溶液。称取氢氧化钠（G.R.）120g于250mL烧杯中，加水100mL，振摇使其溶解，冷却后置于聚乙烯塑料瓶中，密封放置数日澄清后，取上清液5.6mL，加新煮沸并已冷却的蒸馏水至1000mL，摇匀。

氢氧化钠标准溶液的标定：精密称取0.6g在105～110℃干燥至恒重的基准邻苯二甲酸氢钾，加50mL新煮沸过的冷蒸馏水，振摇使其溶解，加两滴酚酞指示剂，用配制的氢氧化钠标准溶液滴定至溶液呈微红色30s不褪色。同时做空白试验。

计算：

$$C=\frac{m\times 1000}{(V_1-V_2)\times 204.2}$$

式中，C 为NaOH标准溶液的浓度，mol/L；m 为基准邻苯二甲酸氢钾的质量，g；V_1 为标定时所消耗的NaOH标准溶液的体积，mL；V_2 为空白试验所消耗NaOH标准溶液的体积，mL；204.2为邻苯二甲酸氢钾的摩尔质量，g/mol。

(2) 器材　碱式滴定管。其他器材：250mL容量瓶、50mL吸管、小烧杯、量筒、漏斗、滤纸。

4. 实验步骤

称取 10.00～20.00g 捣碎均匀的样品，置于小烧杯内，约用 150mL 已煮沸冷却的蒸馏水移入 250mL 容量瓶中，充分振摇后加水至刻度，摇匀。用干燥滤纸过滤，吸取滤液 50mL，加入酚酞指示剂 3～4 滴，用 0.1mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定至微红色，且 30s 内不褪色为终点。

5. 计算

$$样品的总酸度(\%)=\frac{VcK\times 5}{m}\times 100$$

式中，c 为氢氧化钠标准溶液的浓度，mol/L；V 为滴定消耗氢氧化钠标准溶液的体积，mL；m 为样品质量，g；K 为换算为主要酸的系数，即 1mmol 氢氧化钠相当于主要酸的质量数（g）。

6. 注意事项

① 因食品中含有多种有机酸，总酸度测定结果通常以样品中含量最多的那种酸表示。苹果酸 0.067，酒石酸 0.075，乙酸 0.060，草酸 0.045，乳酸 0.090，柠檬酸 0.064，一水合柠檬酸 0.070。

② 样液的颜色过深时，可通过加水稀释再滴定，或用活性炭脱色等方法处理后再滴定，亦可用电位滴定法或电导滴定法。

③ 样品浸渍、稀释用的蒸馏水不能含有 CO_2，因为 CO_2 溶于水中成为酸性的 H_2CO_3 形式，影响滴定终点时酚酞颜色变化。将蒸馏水煮沸 15min 即可驱除 CO_2，冷却后立即使用。

④ 食品中的酸是多种有机弱酸的混合物，用强碱滴定测其含量时滴定突跃不明显，其滴定终点偏碱，一般在 pH 8.2 左右，故可选用酚酞作终点指示剂。

二、食品有效酸度的测定——酸度计法

1. 实验目的

① 掌握食品有效酸度的测定方法和原理。

② 熟练掌握酸度计的使用方法。

2. 实验原理

以玻璃电极为指示电极，饱和甘汞电极为参比电极，插入待测溶液中组成原电池，该电池的电动势大小与溶液的氢离子浓度（即 pH 值）有直接关系：

$$E=E^{\circ}+0.059\lg[H^+]=E^{\circ}-0.059pH(25℃)$$

即在 25℃时，每相差一个 pH 单位就产生 59mV 的电极电位，利用酸度计测量电池电动势，由仪器指示值直接读出样品溶液的 pH 值。

3. 实验材料与仪器

(1) 试剂

① pH 为 4.01 的标准缓冲溶液（20℃）。准确称取在 110～120℃下烘干 2～3h 的优级纯邻苯二甲酸氢钾（$KHC_8H_4O_4$）10.12g，溶于不含 CO_2 的水中，稀释至 1000mL，摇匀。

② pH 为 6.88 的标准缓冲溶液（20℃）。准确称取在 110～120℃下烘干 2～3h 的优级纯磷酸二氢钾（KH_2PO_4）3.39g 和优级纯无水磷酸氢二钠（Na_2HPO_4）3.53g 溶于水中，稀释至 1000mL，摇匀。

③ pH 为 9.227 的标准缓冲溶液（20℃）。准确称取纯硼砂（$Na_2B_4O_7\cdot 10H_2O$）3.80g，溶于除去 CO_2 的水中，稀释至 1000mL，摇匀。

(2) 器材　酸度计；玻璃电极和饱和甘汞电极（或复合电极），电磁搅拌器，高速组织捣碎机。

4. 实验步骤

(1) 样品处理

① 果蔬类样品。将样品榨汁后，取其汁液直接测定。

② 肉类样品。称取 10.00g 已除去脂肪、绞碎的肌肉样品，加 100mL 新煮沸并冷却的蒸馏水，浸泡 15min（随时摇动），然后过滤，测定滤液的 pH。

③ 一般液体样品（如牛乳、果汁等）。直接取样测定。

④ 含 CO_2 的液体样品（如碳酸饮料、啤酒等）。在 40℃水浴上加热 30min，以除去二氧化碳，冷却后测定。

（2）样品测定（以 pHS-3C 酸度计为例）

① pH 计校正。先将 pH 计的电极接好，接通电源，预热；调节补偿温度旋钮后，将电极浸入缓冲溶液中；然后按下读数开关，调节电位调节器使指针指在缓冲溶液的 pH 上。放开读数开关，指针应指在 7，重复上述操作两次以上。

② 样品测定。测定时先用 pH 标准缓冲溶液进行校正。然后将电极插入待测溶液中进行测定，直接从表头上读取 pH 值。每次测定前，将电极用水冲洗并以滤纸吸干后再测定。

样品测定完毕，将复合电极取下，用水冲洗及滤纸吸干后，将电极护帽套上放好，帽内应放少量补充液，以保持电极球池的湿润。

5. 注意事项

① 新的和久置不用的玻璃电极使用前应在蒸馏水中浸泡 24h 以上。玻璃电极不用时，应浸在蒸馏水中。

② 甘汞电极中的氯化钾为饱和溶液，为避免在室温升高时，氯化钾变为不饱和，应加入少许氯化钾晶体。在使用时，应注意排除弯管内的气泡和电极表面或液体接界部位的空气泡，以防溶液被隔断，引起测量电路断路或读数不稳。

③ 使用甘汞电极时，应将电极上部的小橡皮塞拔去，让极少量的 KCl 溶液从毛细管流出，以免样品溶液进入毛细管而使测定结果不准确。使用完后，应把电极上下两个橡皮帽套上，以免电极内溶液流失。

④ 电极经长期使用后，如发现梯度略有降低，可把电极下端浸泡在 4%氢氟酸溶液中3～5s，用蒸馏水洗净，然后在氯化钾溶液中浸泡，使之复新。

⑤ 仪器一经标定，定位和调零二旋钮就不得随意触动，否则必须重新标定。

⑥ 由于样品的 pH 值可能会因吸收 CO_2 等因素而改变，因此试液制备后应立即测定。

实验五　蛋白质测定（微量凯氏法）

一、实验目的

1. 掌握食品中蛋白质含量的测定方法和原理。
2. 熟练掌握凯氏定氮器的操作使用方法。

二、实验原理

蛋白质是含氮的有机化合物。食品与硫酸和催化剂一同加热消化，使蛋白质分解，分解的氮与硫酸结合生成硫酸铵。然后碱化蒸馏使氨游离，用硼酸吸收后再以硫酸或盐酸标准溶液滴定，根据酸的消耗量乘以换算系数，即为蛋白质含量。

凯氏定氮法常用于测定天然有机物（如蛋白质、核酸及氮和氮基等）的含氮量。天然的含氮有机物与浓硫酸共热时，其中的碳、氢二元素被氧化成二氧化碳和水，氮则变成氨，并进一步与硫酸作用生成硫酸铵。此过程称之为“消化”。

但是，这个反应进行得比较缓慢，通常需要硫酸钾或硫酸钠以提高反应的沸点，并加入硫酸铜作为催化剂，以促进反应的进行。甘氨酸的消化过程可表示如下。

$$\begin{array}{l}CH_2COOH \\ | \\ NH_2\end{array} + 3H_2SO_4 \longrightarrow 2CO_2\uparrow + 3SO_2\uparrow + 4H_2O + NH_3\uparrow$$

$$2NH_3 + H_2SO_4 \longrightarrow (NH_4)_2SO_4$$

浓碱可使消化液中的硫酸铵分解，游离出氮，借水蒸气将产生的氨蒸馏到一定量，一定浓度的硼酸溶液中的硼酸吸收氨后，氨与溶液中的氢离子结合，生成铵离子，使溶液中氢离子浓度降低，然后用标准无机酸滴定，直至恢复溶液中的氢离子浓度为止，最后根据所用标准酸的量计算出待测物中的氮量。

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \longrightarrow Na_2SO_4 + 2NH_4OH$$

$$NH_4OH \longrightarrow H_2O + NH_3\uparrow$$

$$NH_3 + H_3BO_3 \longrightarrow NH_4H_2BO_3$$

$$NH_4H_2BO_3 + HCl \longrightarrow NH_4Cl + H_3BO_3$$

三、实验材料与仪器

1. 试剂

以下所有试剂均用不含氮的蒸馏水配制，包括硫酸铜、硫酸钾、硫酸、2%硼酸溶液；混合指示液：1份0.1%甲基红乙醇溶液与5份0.1%溴甲酚绿乙醇溶液临用时混合，也可用2份0.1%甲基红乙醇溶液与1份0.1%次甲基蓝乙醇溶液临用时混合；40%氢氧化钠溶液；0.025mol/L硫酸标准溶液或0.05mol/L盐酸标准溶液。

2. 器材

凯氏定氮蒸馏装置，如图5-3所示。可调电炉，分析天平，凯氏定氮瓶（100mL或500mL），酸式滴定管及滴定台，调压器，其他器材：100mL容量瓶、量筒、洗瓶、锥形瓶、烧杯等。

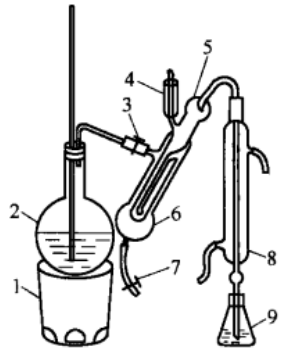


图5-3 凯氏定氮蒸馏装置
1—电炉；2—水蒸气发生器（2L平底烧瓶）；3—螺旋夹；4—小玻杯及棒状玻塞；5—反应室；6—反应室外层；7—橡皮管及螺旋夹；8—冷凝管；9—蒸馏液接收瓶

四、实验步骤

1. 样品处理

精密称取0.2～2.0g固体样品或2～5g半固体样品或吸取10～20mL液体样品（约相当氮30～40mg），移入干燥的100mL或500mL定氮瓶中，加入0.2g硫酸铜、3g硫酸钾及20mL硫酸，稍摇匀后于瓶口放一小漏斗，将瓶以45°角斜支于有小孔的石棉网上。小心加热，待内容物全部炭化，泡沫完全停止后加强火力，并保持瓶内液体微沸，至液体呈蓝绿色澄清透明后，再继续加热0.5h。取下放冷，小心加20mL水。放冷后，移入100mL容量瓶中，并用少量水洗定氮瓶，洗液并入容量瓶中，再加水至刻度，混匀备用。取与处理样品相同量的硫酸铜、硫酸钾、硫酸按同一方法做试剂空白试验。

2. 凯氏定氮装置准备

按图装好定氮装置，于水蒸气发生瓶内装水至约2/3处，加甲基红指示液数滴及数毫升硫酸，以保持水呈酸性，加入数粒玻璃珠以防暴沸，用调压器控制，加热煮沸水蒸气发生瓶内的水。

3. 滴定操作

向接收瓶内加入 10mL 2%硼酸溶液及混合指示液 1 滴，并使冷凝管的下端插入液面下，吸取 10.0mL 样品消化稀释液由小玻璃杯流入反应室，并以 10mL 水洗涤小玻璃杯使流入反应室内，塞紧小玻璃杯的棒状玻塞。将 10mL 40%氢氧化钠溶液倒入小玻璃杯，提起玻塞使其缓缓流入反应室，立即将玻塞盖紧，并加水于小玻璃杯以防漏气。夹紧螺旋夹，开始蒸馏。蒸汽通入反应室使氨通过冷凝管而进入接收瓶内，蒸馏 5min。移动接收瓶，使冷凝管下端离开液面，再蒸馏 1min。然后用少量水冲洗冷凝管下端外部。取下接收瓶，以 0.025mol/L 硫酸或 0.05mol/L 盐酸标准溶液滴定至灰色或蓝紫色为终点。

同时吸取 10.0mL 试剂空白消化液重复上述操作。

五、实验结果

$$X=\frac{(V_1-V_2)\times M_1\times 0.014\times F}{m\times\frac{10}{100}}\times 100$$

或

$$X=\frac{(V_1-V_2)\times M_2\times 0.028\times F}{m\times\frac{10}{100}}\times 100$$

式中，X 为样品中蛋白质的含量，%；V_1 为样品消耗硫酸或盐酸标准液的体积，mL；V_2 为试剂空白消耗硫酸或盐酸标准液的体积，mL；M_1 为盐酸标准溶液的浓度；M_2 为硫酸标准溶液的浓度；0.014 为 1mol/L 盐酸标准溶液 1mL 相当于氮的质量（g）；0.028 为 1mol/L 硫酸标准溶液 1mL 相当于氮的质量，g；m 为样品的质量（体积），g（mL）；F 为氮换算为蛋白质的系数。蛋白质中的氮含量一般为 15%～17.6%，按 16%计算乘以 6.25 即为蛋白质。换算系数乳制品为 6.38，面粉为 5.7，玉米、高粱为 6.24，花生为 5.46，米为 5.95，大豆及其制品为 5.71，肉与肉制品为 6.25，大麦、小米、燕麦为 6.24，芝麻为 5.30。

六、注意事项

1. 由于蛋白质的氮元素含量为 15%～17.6%，所以一般按 16%计算，故氮元素质量乘以 6.25 即为蛋白质含量。但由于面筋所含氮元素为 17.54%，所以在测定面粉及小麦的蛋白质含量时，应将测得的氮元素质量乘以 6.38 即得小麦、面粉中蛋白质含量。如测奶制品中的蛋白质含量则用氮量乘以 6.38。

2. 在消化过程中，硫酸钾的作用是提高溶液的沸点。硫酸铜为催化剂，并可在蒸馏时作碱性反应指示剂。也有用 HgO 作催化剂的。

3. 以硼酸为 NH_3 的吸收液，可以省去标准 0.1mol/L NaOH 溶液，并且硼酸的体积要求不严格，亦可免用移液管量。

4. 甲基红-次甲基蓝指示剂的终点比单独用甲基红容易观察，在碱性环境中为绿色，中性为灰色，酸性为紫色。

实验六　食品中还原糖含量的测定（直接滴定法）

一、实验目的

1. 掌握食品中还原糖含量的测定方法和原理。
2. 掌握食品中还原糖测定的样品处理方法。

3. 熟练滴定分析操作。

二、实验原理

样品经除去蛋白质后，在加热条件下，直接滴定已标定过的碱性酒石酸铜液（费林试剂），以次甲基蓝为指示剂，根据样品消耗的体积，计算还原糖量。

三、实验材料与仪器

1. 试剂

（1）碱性酒石酸铜甲液（费林试剂甲液） 称取 15g 硫酸铜（$CuSO_4 \cdot 5H_2O$）及 0.05g 次甲基蓝，溶于水中并稀释到 1000mL。

（2）碱性酒石酸铜乙液（费林试剂乙液） 称取 50g 酒石酸钾钠与 75g 氢氧化钠，溶于水中，再加入 4g 亚铁氰化钾，完全溶解后，用水稀释至 1000mL，贮存于橡胶塞玻璃瓶中。

（3）乙酸锌溶液 称取 21.9g 乙酸锌，加 3mL 冰乙酸，加水溶解并稀释至 100mL。

（4）10.6%亚铁氰化钾溶液 称取 10.6g 亚铁氰化钾，用水溶解并稀释至 100mL。

（5）1mol/L 氢氧化钠溶液

（6）葡萄糖标准溶液（1mg/mL） 准确称取 1.000g 经 98～100℃干燥至恒重的纯葡萄糖（纯度在 99%以上），加水溶解后，加入 5mL 盐酸（目的是防腐），用水稀释至 1000mL。

2. 器材

碱式滴定管（带玻璃弯管），滴定台，天平，水浴锅，可调电炉；其他器材：100mL 容量瓶（100mL、250mL）、量筒、吸管（5mL）、漏斗、洗瓶、锥形瓶、烧杯、滤纸等。

四、实验步骤

1. 样品处理

（1）乳类、乳制品及含蛋白质的冷食类 称取 2.5～5g 固体样品（或吸取 25～50mL 液体样品），置于 100mL 容量瓶中，加 50mL 水，摇匀后慢慢加入 5mL 乙酸锌溶液和 5mL 10.6% 亚铁氰化钾溶液，加水至刻度，摇匀。静置 30min，用干燥滤纸过滤，弃去初滤液，滤液备用。

（2）酒精饮料 吸取 100mL 样品，置于蒸发皿中，用 1mol/L 氢氧化钠溶液中和至中性，在水浴上蒸发至原体积的 1/4 后，移入 100mL 容量瓶中，加入 50mL 水，以下按（1）自“加入 5mL 乙酸锌溶液”起依法操作。

（3）含多量淀粉的食品 称取 10～20g 样品，置于 250mL 容量瓶中，加 200mL 水，在 45℃水浴中加热 1h，并时时振摇（注意：此步为提取还原糖，切忌温度过高而导致淀粉糊化、水解，影响结果）。冷后加水至刻度，摇匀，静置。吸取 200mL 上清液于另一 200mL 容量瓶中，以下按（1）自“加入 5mL 乙酸锌溶液”起依法操作。

（4）汽水等含 CO_2 的饮料 吸取 100mL 样品置于蒸发皿中，在水浴上除去 CO_2 后，移入 250mL 容量瓶，并用水洗涤蒸发皿，洗液并入容量瓶中，加水至刻度，混匀后备用。

2. 碱性酒石酸铜溶液的标定

吸取 5.0mL 碱性酒石酸铜甲液及 5.0mL 乙液，置于 150mL 锥形瓶中（甲液、乙液混合后生成氧化亚铜沉淀，因此，应将甲液加入到乙液，使生成的氧化亚铜沉淀重溶），加水 10mL、玻璃珠 2 粒，从滴定管中滴加 9mL 葡萄糖标准溶液，控制在 2min 内加热至沸，趁沸以每两秒 1 滴的速度继续滴加葡萄糖标准溶液，直至溶液蓝色刚好褪去为终点，记录消耗葡萄糖标准溶液的总体积。同法平行操作三份，取其平均值，计算每 10mL（甲液、乙液各 5mL）碱性酒石酸铜溶液相当于葡萄糖的质量（mg）。

3. 样品溶液预测

吸取 5.0mL 碱性酒石酸铜甲液及 5.0mL 乙液，置于 150mL 锥形瓶中，加水 10mL、玻璃珠 2 粒，控制在 2min 内加热至沸，趁沸以先快后慢的速度，从滴定管中滴加样品溶液，并保持溶液沸腾状态，待溶液颜色变浅时，以每两秒 1 滴的速度滴定，直至溶液蓝色刚好褪去为终点，记录样液消耗的体积。

4. 样品溶液测定

吸取 5.0mL 碱性酒石酸铜甲液及 5.0mL 乙液，置于 150mL 锥形瓶中，加水 10mL、玻璃珠 2 粒，从滴定管中滴加比预测体积少 1mL 的样品溶液，使在 2min 内加热至沸，趁沸以每两秒 1 滴的速度滴至终点。记录样液消耗的体积，同法平行操作三份，得出平均消耗体积。

五、实验结果

$$\text{样品中还原糖的含量(以葡萄糖计，\%)} = \frac{m_1}{m \times \frac{V}{250} \times 1000} \times 100$$

式中，m_1 为 10mL 碱性酒石酸铜溶液（甲液、乙液各 5mL）相当于葡萄糖的质量，mg；m 为样品质量，g；V 为测定时平均消耗样品溶液的体积，mL。

六、注意事项

1. 本法试剂用量少、终点较易观察。由于在碱性酒石酸铜乙液中加入了少量亚铁氰化钾，使其与氧化亚铜生成可溶性的无色络合物，而不再析出红色沉淀，使终点更为明显。

2. 滴定必须在沸腾条件下进行，其原因一是可以加快还原糖与 Cu^{2+} 的反应速度；二是次甲基蓝变色反应是可逆的，还原型次甲基蓝遇空气中氧时，又会被氧化为氧化型。此外，氧化亚铜也极不稳定，易被空气中的氧所氧化。保持反应液沸腾可防止空气进入，避免次甲基蓝和氧化亚铜被氧化而增加耗糖量。

3. 样品溶液必须进行预测，原因是本法对样品溶液中还原糖浓度有一定要求（0.1%左右），测定时样品溶液的消耗体积应与标定葡萄糖标准溶液时消耗的体积相近。通过预测可了解样品溶液浓度是否合适，使预测时消耗样液量在 10mL 左右；另外，通过预测可知道样液大概消耗量，以便在正式测定时预先加入比实际用量少 1mL 的样液，以保证在规定时间内完成滴定工作。

4. 本法对滴定操作条件要求严格，整个滴定工作须控制在 3min 内完成。标准溶液的标定、样品溶液预测及测定的操作条件应保持一致。每次滴定时，被测溶液的使用量、锥形瓶规格、加热电炉功率、滴定速度、预加入大致体积、终点的确定方法等都尽量一致。另外，滴定时不能随意摇动锥形瓶，更不能把锥形瓶从热源上取下来滴定，以防止空气进入反应溶液中。

实验七　食品中粗纤维的测定

一、实验目的

1. 掌握膳食中还原糖含量的测定方法和原理。

2. 熟悉样品酸水解和碱皂化的方法。

二、实验原理

在硫酸作用下，样品中的糖、淀粉、果胶质和半纤维素经水解除去后，再用碱处理，除去蛋白质及脂肪酸，遗留的残渣为粗纤维。如其中含有不溶于酸碱的杂质，可灰化后除去。

三、实验材料与仪器

1. 试剂

① 1.25%硫酸。

② 1.25%氢氧化钾溶液。

③ 石棉：加5%氢氧化钠溶液浸泡石棉，水浴上回流8h以上，再用热水充分洗涤。然后用20%盐酸在沸水浴上回流8h以上，再用热水充分洗涤，干燥。在600～700℃中灼烧后，加水使成混悬物，贮存于玻塞瓶中。

2. 器材

电炉，分析天平，G2垂融漏斗及抽滤装置或重融坩埚，干燥箱；其他器材：500mL锥形瓶、量筒、乳钵等。

四、实验步骤

1. 称取20～30g捣碎的样品（或5.0g干样品），移入500mL锥形瓶中，加入200mL煮沸的1.25%硫酸，加热使微沸，保持体积恒定，维持30min，每隔5min摇动锥形瓶一次，以充分混合瓶内的物质。

2. 取下锥形瓶，立即用亚麻布过滤后，用沸水洗涤至洗液不呈酸性。

3. 再用200mL煮沸的1.25%氢氧化钾溶液，将亚麻布上的存留物洗入原锥形瓶内加热微沸30min后取下锥形瓶，立即用亚麻布过滤，用沸水洗涤2～3次，然后移入已干燥称重的G2垂融坩埚或同型号的垂融漏斗中，抽滤，用热水充分洗涤，抽干。再依次用乙醇和乙醚洗涤一次。将坩埚和内容物在105℃烘箱中烘干后称量，重复操作，直至恒量。

如样品中含有较多的不溶性杂质，则可将样品移入石棉坩埚，烘干称量后再移入550℃高温炉中灰化，使含碳的物质全部灰化，置于干燥器内，冷却至室温称量，所损失的量即为粗纤维量。

五、实验结果

$$X=\frac{G}{m}\times 100$$

式中，X为样品中含粗纤维的含量，%；G为残余物的质量（或经高温炉损失的质量），g；m为样品的质量，g。

六、注意事项

1. 样品细度愈小，分析结果愈低，通常的样品细度掌握在1mm左右。

2. 样品脱脂不彻底，则分析结果偏高。

实验八　脂肪的测定（索氏提取法）

一、实验目的

1. 掌握索氏提取法测定食品中脂肪含量的方法和原理。

2. 熟悉索氏提取器的操作方法。

二、实验原理

索氏提取法的原理是将粉碎或经前处理而分散的试样，放入圆筒滤纸内，将滤纸筒置于索氏提取管中，利用乙醚在水浴中加热回流，提取试样中的脂类于接受烧瓶中，经蒸发去除乙醚，再称出烧瓶中残留物质量，即为试样中脂肪含量。

此法适用于脂类含量较高，且主要含游离脂类干燥无水的样品；结合态脂类或含量较少的半固体及液体食品不宜用此法。

三、实验材料与仪器

1. 试剂

无水乙醚（A. R. 级）或石油醚。

2. 器材

索氏提取器，电热恒温水浴（50～80℃），电热恒温烘箱（80～120℃），分析天平，玻璃干燥器，乳钵。

四、实验步骤

1. 样品制备

样品于100～105℃烘箱中烘干并磨碎，或用测定水分后的试样。准确称取2～5g试样于滤纸筒内，封好上口。

2. 索氏提取器的准备

索氏提取器是由回流冷凝管、提脂管、提脂烧瓶三部分组成，抽提脂肪之前应将各部分洗涤干净并干燥，提脂烧瓶需烘干并称至恒重。

3. 抽提

将滤纸筒放入脂肪提取器的抽提筒内，连接已干燥至恒重的接受瓶，由抽提器冷凝管上端加入无水乙醚或石油醚至瓶内容积的2/3处，于水浴上加热，使乙醚或石油醚不断回流提取，一般为6～12h。

4. 称量

取下接受瓶，回收乙醚或石油醚，待接受瓶内乙醚剩1～2mL时在水浴上蒸干，再于95～105℃干燥2h，放干燥器内冷却0.5h后称量。

五、实验结果

$$w=\frac{m_2-m_1}{m}\times 100\%$$

式中，w为样品中脂肪的含量，%；m为样品的质量，g；m_1为接受瓶的瓶质量，g；m_2为接受瓶与脂肪的质量，g。

$$\text{或脂类}(\%)=\frac{\text{抽提前滤纸筒质量}-\text{抽提后滤纸筒质量}}{\text{样品质量}}\times 100\%$$

六、注意事项

1. 此法原则上应用于风干或经干燥处理的试样，但某些湿润、黏稠状态的食品，添加无

水硫酸钠混合分散后也可设法使用索氏提取法。

2. 乙醚回收后，烧瓶中稍残留乙醚，放入烘箱中有发生爆炸的危险，故需在水浴上彻底挥净，另外，使用乙醚时应注意室内外通风换气。仪器周围不要有明火，以防空气中有机溶剂蒸气着火或爆炸。

3. 提取过程中若溶剂蒸发损耗太多，可适当从冷凝器上口小心加入（用漏斗）适量新溶剂补充。

4. 提取后烧瓶烘干称量过程中，反复加热会因脂类氧化而增量，故在恒量中若质量增加时，应以增量前的质量作为恒量。为避免脂肪氧化造成的误差，对富含脂肪的食品，应在真空干燥箱中干燥。

5. 若样品份数多，可将索氏提取器串联起来同时使用。所用乙醚应不含过氧化物、水分及醇类。过氧化物的存在会促使脂肪氧化而增量，且在烘干提脂瓶时残留过氧化物易发生爆炸事故。水分及醇类的存在会因糖及无机盐等物质的抽出而增量。

过氧化物检查方法：取乙醚 10mL 加入 100g/L 碘化钾溶液 2mL，用水振摇放置 1min，若碘化钾层出现黄色证明有过氧化物存在。此乙醚需经处理后方可使用。

乙醚的处理：于乙醚中加入 1/20～1/10 体积的 200g/L 硫代硫酸钠溶液洗涤，再用水洗，然后加入少量无水氯化钙或无水硫酸钠脱水，于水浴上进行蒸馏。蒸馏时，水浴温度一般调至稍高于溶剂沸点，能达到烧瓶内沸腾即可。弃去最初及最后的 1/10 馏出液，收集中间馏出液备用。

实验九　食品中维生素 B_1 含量的测定（荧光分光光度法）

一、实验目的

1. 掌握荧光分光光度法测定食品中维生素 B_1 含量的方法和原理。

2. 熟悉荧光分光光度计的操作方法。

二、实验原理

维生素 B_1（硫胺素）在碱性铁氰化钾溶液中，能被氧化成蓝色的荧光化合物——硫色素（噻嘧色素），在没有其他荧光物质存在时，溶液的荧光强度与硫色素的含量成正比，即与溶液中维生素 B_1 的含量成正比。

三、实验材料

1. 试剂

（1）正丁醇，无水硫酸钠，淀粉酶，0.1mol/L 盐酸溶液，0.3mol/L 盐酸溶液，2mol/L 乙酸钠溶液，15%氢氧化钠溶液，3%乙酸溶液。

（2）25%酸性氯化钾溶液　将 8.5mL 浓盐酸用 25%氯化钾溶液稀释至 1000mL。

（3）碱性铁氰化钾溶液　取 4mL 1%铁氰化钾溶液（储于棕色瓶内），用 15%氢氧化钠溶液稀释至 60mL。临用时配制，避光使用。

（4）活性人造浮石　取 40 目的人造浮石 100g，以 10 倍于其容积的 3%热乙酸搅洗 2 次，每次 10min；再用 5 倍于其容积的 25%热氯化钾搅洗 15min；然后再用 3%热乙酸搅洗 10min；最后用热蒸馏水洗至没有氯离子，于蒸馏水中保存。

（5）硫胺素标准溶液（10μg/mL）　准确称取 100mg 经氯化钙干燥 24h 的硫胺素，溶于

0.01mol/L 盐酸中，并稀释至 1000mL；再用 0.01mol/L 盐酸稀释 10 倍。在冰箱中避光可保存数月。

（6）硫胺素标准使用液（0.1μg/mL） 临用时将硫胺素标准溶液（10μg/mL）以水稀释 100 倍。

（7）0.04%溴甲酚绿溶液 称取 0.1g 溴甲酚绿，置于小研钵中，加入 1.4mL 0.1mol/L 氢氧化钠研磨片刻，再加入少许水继续研磨至完全溶解，用水稀释至 250mL。

2. 器材

荧光分光光度计，Maizel-Gerson 反应瓶（图 5-4），盐基交换管（图 5-5），高压锅。

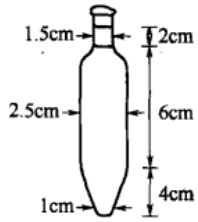


图 5-4 Maizel-Gerson 反应瓶

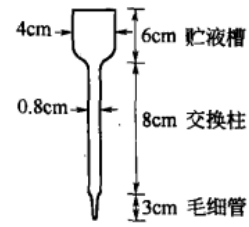


图 5-5 盐基交换管

四、实验步骤

1. 样品处理

（1）提取 称取 5～20g 用匀浆机打成匀浆的试样（硫胺素含量约为 10～30μg），置于 150mL 锥形瓶中，加入 50～75mL 0.1mol/L 或 0.3mol/L 盐酸使其溶解，瓶口加盖小烧杯后放入高压锅中加热水解（10.3×10^4Pa）30min，凉后取出。用乙酸钠（2mol/L）调节 pH 至 4.5（以 0.04%溴甲酚绿为外指示剂），按每克试样加入 20mg 的比例加入淀粉酶水解，于45～50℃温箱过夜保温约 16h。冷却，定容至 100mL，过滤，即为提取液。

（2）净化 用少许脱脂棉铺于盐基交换管的交换柱底部，加水将棉纤维中气泡排出，再加 1g 活性人造浮石使之达到交换柱的 1/3 高度，保持交换管中液面始终高于人造浮石。用移液管加入提取液 20～80mL（使通过活性人造浮石的硫胺素总量约 2～5μg）。加入 10mL 热水冲洗交换柱，弃去洗液；如此重复三次。然后用 20mL 90℃25%酸性氯化钾溶液洗脱，收集洗脱液于刻度试管中，冷却后用 25%酸性氯化钾定容至 25mL，即为净化液。

将 20mL 硫胺素标准使用液加入盐基交换管中代替样品提取液，重复以上操作，即得到标准净化液。

（3）氧化 取 A、B 两个 Maizel-Gerson 反应瓶（可用具塞试管代替），各加 5mL 样品净化液。在避光暗环境中，于反应瓶 A 加入 3mL 15%氢氧化钠溶液，振摇 15s 后加入 10mL 正丁醇（试剂空白）；于反应瓶 B 加入 3mL 碱性铁氰化钾溶液，振摇 15s 后加入 10mL 正丁醇（称为样液）。将 A、B 两个反应瓶同时用力振摇萃取，准确计时 1.5min。用黑布遮盖 A、B 反应瓶，静置分层后弃去下层碱溶液，加入 3g 无水硫酸钠脱水，供荧光强度测定。

用标准净化液代替样品净化液，重复以上操作。

2. 荧光强度测定

（1）荧光测定条件 激发波长 365nm，发射波长 435nm，激发波狭缝 5nm，发射波狭缝 5nm。

（2）测定 依次测定试剂空白（试液反应瓶 A）、标准空白（标准反应瓶 A）、试样（试液

反应瓶 B）和标准液（标准反应瓶 B）的荧光强度。

五、实验结果

$$\text{样品中硫胺素的含量(mg/100g)}=(U-U_b)\times\frac{cV}{S-S_b}\times\frac{V_1}{V_2}\times\frac{1}{m}\times\frac{100}{1000}$$

式中，U 为试样荧光强度；U_b 为试剂空白荧光强度；S 为标准荧光强度；S_b 为标准空白荧光强度；c 为硫胺素标准使用液浓度，μg/mL；V 为用于净化的硫胺素标准使用液体积，mL；V_1 为试样水解后定容的体积，mL；V_2 为试样用于净化的提取液体积，mL；m 为样品质量，g；100/1000 为样品含量由 μg/g 换算成 mg/100g 的系数。

六、注意事项

1. 本法适用于各类食品中硫胺素的测定，但不适用于有吸附硫胺素能力的物质和含有影响硫色素荧光物质的样品。

2. 一般食品中的维生素 B_1 有游离型的，也有结合型的（即与淀粉、蛋白质等结合在一起），故需用酸和酶水解，使结合型维生素 B_1 成为游离型后再测定。

3. 铁氰化钾的用量要适当，过多会破坏硫胺素，过少则硫胺素氧化不完全。样品与铁氰化钾溶液混合后，所呈现的黄色应至少保持 15s，否则应再滴加铁氰化钾溶液。样品中如含有还原性物质，而铁氰化钾用量不够时，硫胺素氧化则不完全。

4. 凡士林具有荧光，涂在活塞上会带来污染，可用甘油-淀粉润滑剂代替凡士林。

5. 紫外线破坏硫色素，所以硫色素形成后要迅速测定，并力求避光操作。

6. 谷类食品不需酶分解，样品粉碎后用 25%酸性氯化钾直接提取、氧化测定。

7. 样液和标准液通过交换柱的流速要一致，流速过快会因交换不彻底或吸附不完全而影响测定结果。

实验十　抗坏血酸含量测定
（2,6-二氯酚靛酚法）

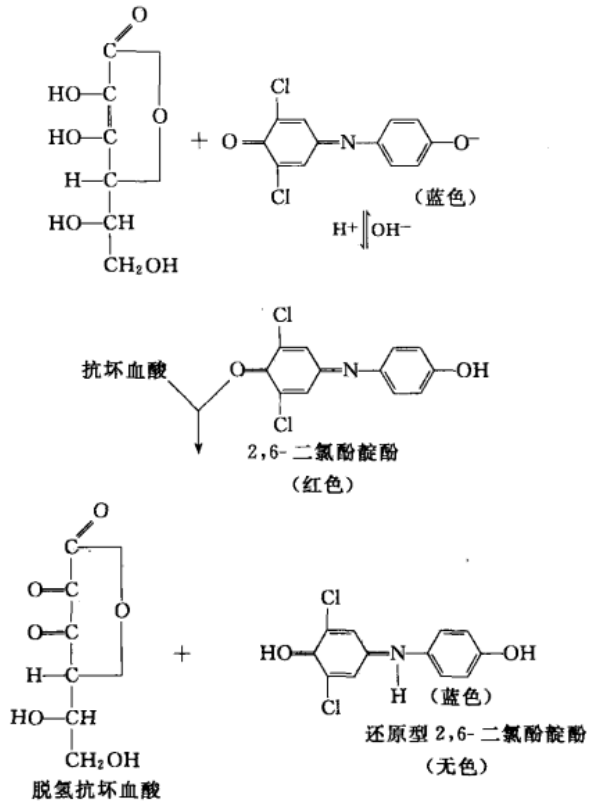
一、实验目的

1. 掌握用 2,6-二氯酚靛酚法测定维生素 C 含量的原理和方法。

2. 了解维生素 C 的生理功能和性质。

二、实验原理

维生素 C（也称抗坏血酸）在金属铜和抗坏血酸氧化酶存在下极易氧化，因此，在用铜制品加工食品时，维生素 C 易丢失。此外在碱性溶液中，维生素 C 也易被破坏，而在酸性溶液中比较稳定。利用它具有的还原性质可测定其含量。还原型抗坏血酸能被染料 2,6-二氯酚靛酚氧化为脱氢型，该染料在碱性溶液中呈蓝色，在酸性溶液中呈红色，被还原后变为无色。因此用 2,6-二氯酚靛酚滴定含有维生素 C 的酸性溶液时，维生素 C 尚未全部被氧化时，则滴下的染料立即使溶液变成粉红色，当溶液中的抗坏血酸全部被氧化成脱氢抗坏血酸时，滴入的 2,6-二氯酚靛酚立即使溶液呈现淡红色。用这种染料滴定抗坏血酸至溶液呈淡红色为滴定终点，根据染料消耗量即可计算出样品中还原型抗坏血酸的含量。



三、实验材料与仪器

1. 样品

新鲜水果或蔬菜。

2. 试剂

(1) 1%草酸溶液　草酸 1g 溶于 100mL 蒸馏水中。

(2) 2%草酸溶液　草酸 2g 溶于 100mL 蒸馏水中。

(3) 抗坏血酸标准溶液 (0.1mg/mL)　精确称取 10mg 纯抗坏血酸（应为洁白色，如变为黄色则不能用），用 1%草酸溶液溶解并定容至 100mL。此溶液应贮存于棕色瓶中，最好临用前配制。

(4) 0.05% 2,6-二氯酚靛酚溶液　称取 500mg 2,6-二氯酚靛酚溶于 300mL 含 104mg 碳酸氢钠 (A.R.) 的热水中，冷却后用蒸馏水稀释至 1000mL，滤去不溶物，贮存于棕色瓶中，4℃冷藏可稳定一周，临用前以标准抗坏血酸标定。

3. 器材

天平，组织捣碎机，微量滴定管 (5mL)；其他器材：50mL 容量瓶、吸管 (5mL，10mL)、100mL 锥形瓶、漏斗。

四、实验步骤

1. 提取抗坏血酸

取新鲜水果或蔬菜 50g，加入 50mL 2%草酸溶液，用组织捣碎机打成匀浆。过滤取得滤液，滤饼可用少量 2%草酸洗几次，合并滤液，记录滤液体积。

2. 2,6-二氯酚靛酚溶液的标定

准确吸取 4.0mL 抗坏血酸标准液（含 0.4g 抗坏血酸）于 100mL 锥形瓶中，加 16mL 1% 草酸溶液，用 2,6-二氯酚靛酚滴定至淡红色（15s 内不褪色即为终点）。记录所用染料溶液的体积，计算出 1mL 染料溶液所能氧化抗坏血酸的量。

3. 样品滴定

准确吸取样品提取液两份，各 20mL，分别放入两个 100mL 锥形瓶中，滴定方法同“标定”中的操作，另取 20mL 1%草酸作空白对照滴定。

五、实验结果

$$\text{抗坏血酸含量(mg/100g)}=\frac{(V_1-V_2)\times M}{\frac{V_4}{V_3}\times m}\times 100$$

式中，V_1 为滴定样品所耗用的染料体积，mL；V_2 为滴定空白对照所耗用的染料体积，mL；V_3 为样品提取液的总体积，mL；V_4 为滴定时所取样品提取液的体积，mL；M 为 1mL 染料所能氧化抗坏血酸的质量，mg（可由操作 2 计算得到）；m 为样品质量，g。

六、注意事项

1. 用本法测定抗坏血酸含量虽简便易行，但有下述缺点：第一，本法只能测定还原型抗坏血酸，不能测出具有同样生理功能的氧化型抗坏血酸和结合型抗坏血酸。第二，样品中的色素经常干扰对终点的判断，虽可预先用白陶土脱色，或加入 2～3mL 二氯乙烷，以二氯乙烷层变红为终点，但实际上仍难免产生误差。

2. 用 2%草酸制备提取液，可有效地抑制抗坏血酸氧化酶，以免抗坏血酸变为氧化型而无法滴定，而 1%的草酸无此作用。

3. 如样品中有较多亚铁离子（Fe^{2+}）时，也可使染料还原而影响测定，这时应改用 8% 乙酸代替草酸制备样品提取液，此时 Fe^{2+} 不会很快与染料起作用。

4. 如样品浆状物泡沫过多，可加几滴辛醇或丁醇消泡。

5. 市售的 2,6-二氯酚靛酚质量不一，以标定 0.4mg 抗坏血酸消耗 2mL 左右的染料为宜，可根据标定结果调整染料溶液浓度。

6. 样品提取制备和滴定过程中，要避免阳光照射和与铜、铁器具接触，以免破坏抗坏血酸。

7. 滴定过程宜迅速，一般不超过 2min。样品滴定消耗染料 1～4mL 为宜，如超出此范围，应增加或减少样品提取液的用量。

8. 提取的浆状物如不易过滤，亦可进行离心收集上清液。

实验十一　饮料中胭脂红色素的测定（高效液相色谱法）

一、实验目的

1. 掌握高效液相色谱法测定胭脂红含量的原理和方法。

2. 熟悉高效液相色谱仪的结构与操作方法。

二、实验原理

饮料中的食品添加剂——胭脂红经过脱气除去二氧化碳后，以氨水调整 pH 值，制成一定浓度的水溶液，注入高效液相色谱仪中，经反相色谱分离，经紫外检测器测定，根据保留时间定性，并以峰面积进行定量。

三、实验材料与仪器

1. 样品

含胭脂红色素的饮料。

2. 试剂

(1) 色谱纯甲醇

(2) 0.02mol/L 乙酸铵溶液　称取 1.54g 乙酸铵，加水溶解并稀释至 1000mL，经微孔滤膜（0.45μm）过滤。

(3) 氨水（1∶1）　取氨水 50mL，加水至 100mL。

(4) 胭脂红标准液（0.5mg/mL）

3. 器材

高效液相色谱仪（附紫外检测器）；0.45μm 针孔式过滤器；电炉；微量进样器（10μL）；容量瓶（10mL、25mL）；吸管。

四、实验步骤

1. 饮料样品处理

取饮料经加热脱气 20min 后除去饮料中的二氧化碳，用 1∶1 氨水调节 pH 值至 7 左右，吸取该溶液 5.00mL 于 25mL 容量瓶中以水稀释并定容，用 0.45μm 针孔式过滤器过滤，待测。

2. 胭脂红标准溶液配制

购买胭脂红标样浓度为 0.5mg/mL，使用时，分别吸取 0.5mL、0.2mL、0.1mL、0.02mL 和 0.01mL 的 0.5mg/mL 胭脂红标样，置于 10mL 容量瓶中，分别制成浓度为 25μg/mL、10μg/mL、5μg/mL、1μg/mL 和 0.5μg/mL 的胭脂红标样使用液，用 0.45μm 针孔式过滤器过滤，待测。

3. 反相色谱柱检测

(1) 色谱条件

色谱柱：4.6mm×25cm C_{18} 柱或同等性能色谱柱；

流动相：甲醇-乙酸铵溶液（0.02mol/L）；梯度系统方式，甲醇：20%～35%，3%/min；35%～98%，9%/min；98%继续 6min。

流速：1mL/min；

柱温：40℃；

检测波长：254nm；

进样量：10μL。

(2) 检测　注射 10μL 胭脂红标准使用液和 10μL 样品溶液，得到标样和样品溶液中胭脂红的峰面积或峰高，根据峰面积（或峰高）绘制标准曲线，算出样品中胭脂红的含量。

五、实验结果

$$样品中胭脂红含量(\mu g/mL)=\frac{P_{SR}}{P_{St}}\times c\times 5$$

式中，P_{SR} 为样品色谱图中胭脂红的峰高（或峰面积）；P_{St} 为标准溶液色谱图中胭脂红的峰高（或峰面积）；c 为胭脂红标准溶液的浓度，μg/mL；5 为样品稀释倍数。

六、注意事项

1. 高效液相色谱法所用样液、溶剂、流动相等均需经过脱气处理。

2. 进入色谱柱的样液、试剂等均需经微孔滤膜或针孔式过滤器过滤，以保护色谱柱的使用寿命。

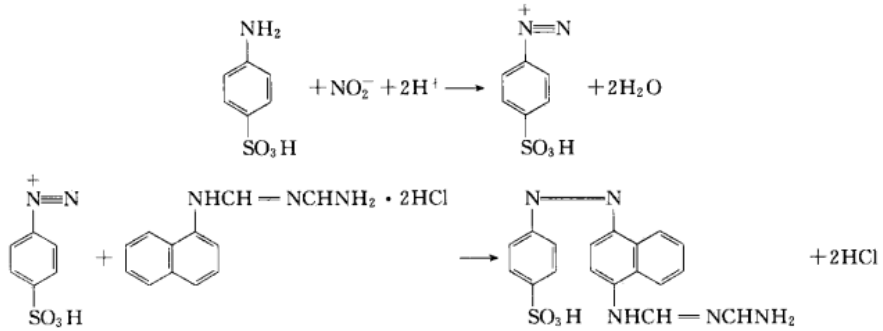
实验十二　食品中亚硝酸盐含量测定（盐酸萘乙二胺比色法）

一、实验目的

1. 掌握盐酸萘乙二胺比色法测定食品中亚硝酸盐含量的原理和方法。
2. 熟悉分光光度计的操作方法。

二、实验原理

样品经沉淀蛋白质、除去脂肪后，在弱酸性条件下亚硝酸盐与对氨基苯磺酸重氮化，再与盐酸萘乙二胺偶合形成紫红色染料，可比色测定。反应式如下：



三、实验材料与仪器

1. 样品

香肠，腊肠，火腿，腊肉，肴肉等熟肉制品。

2. 试剂

（1）氯化铵缓冲溶液（pH9.6～9.7）　1L 容量瓶中加入 500mL 水，准确加入 20.0mL 盐酸，摇匀；准确加入 50mL 氢氧化铵，用水稀释至刻度。必要时用稀盐酸和稀氢氧化铵调试 pH 至所需范围。

（2）硫酸锌溶液（0.42mol/L）　称取 120g 硫酸锌（$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$），用水溶解，并稀释至 1000mL。

（3）氢氧化钠溶液（20g/L）　称取 20g 氢氧化钠，用水溶解，稀释至 1L。

（4）对氨基苯磺酸溶液　称取 10g 对氨基苯磺酸，溶于 700mL 水和 300mL 冰乙酸中，置棕色试剂瓶中混匀，室温保存。

（5）盐酸萘乙二胺溶液（别名 *N*-1-萘基乙二胺）（1g/L）　称取 0.1g 盐酸萘乙二胺，加 60%乙酸溶解并稀释至 100mL，混匀后置棕色瓶中，于冰箱中保存，一周内稳定。

（6）显色剂　临用前将盐酸萘乙二胺溶液（1g/L）和对氨基苯磺酸溶液等体积混合。

（7）亚硝酸钠标准溶液（500μg/mL）　精密称取 250.0mg 于硅胶干燥器中干燥 24h 的亚硝酸钠，加水溶解移入 500mL 容量瓶中，加 100mL 氯化铵缓冲液，加水稀释至刻度，混匀，在 4℃避光保存。

（8）亚硝酸钠标准使用液（5.0μg/mL）　吸取亚硝酸钠标准溶液 1.00mL，置于 100mL 容量瓶中，加水稀释至刻度。临用时现配。

3. 器材

小型粉碎机，组织捣碎机，分光光度计，天平，恒温水浴锅，25mL 比色管或 25mL 具塞试管，其他器材：200mL 容量瓶、吸管、漏斗等。

四、实验步骤

1. 样品处理

称取约 10.00g（粮食取 5.00g）经绞碎混匀的样品，置于捣碎机中，加 70mL 水和 12mL 氢氧化钠溶液（20g/L），混匀，用氢氧化钠溶液调 pH8，定量转移至 200mL 容量瓶中，加 10mL 硫酸锌溶液，混匀，如不产生白色沉淀，再补加 2～5mL 氢氧化钠，混匀。置 60℃水浴中加热 10min，取出后冷至室温，加水至刻度，混匀。放置 0.5h，用滤纸过滤，弃去初滤液 20mL，收集滤液备用。

2. 测定

（1）标准曲线的制备　吸取 0、0.5mL、1.0mL、2.0mL、3.0mL、4.0mL、5.0mL 亚硝酸钠标准使用液（相当于 0、2.5μg、5μg、10μg、15μg、20μg、25μg 亚硝酸钠），分别置于 25mL 具塞试管中。于标准管中分别加入 4.5mL 氯化铵缓冲液，加 2.5mL 60%冰乙酸后，立即加入 5.0mL 显色剂，加水至刻度，混匀，在暗处放置 25min。用 1cm 比色杯（灵敏度低时可换 2cm 比色杯），以零管调节零点，于波长 550nm 处测吸光度，绘制标准曲线。

低含量样品制备标准曲线时的标准系列为：吸取 0、0.4mL、0.8mL、1.2mL、1.6mL、2.0mL 亚硝酸钠标准使用液（相当于 0、2μg、4μg、6μg、8μg、10μg 亚硝酸钠）。

（2）样品测定　吸取 10.0mL 样品滤液于 25mL 比色管中，以下操作按标准曲线制备中自“于标准管中分别加入 4.5mL 氯化铵缓冲液”起依法操作。同时做试剂空白。

五、实验结果

（1）标准曲线的绘制

（2）亚硝酸含量

$$\text{样品中亚硝酸盐的含量(mg/kg)}=\frac{m_1\times 1000}{m\times\frac{V_2}{V_1}\times 1000}$$

式中，m 为样品质量，g；m_1 为测定用样液中亚硝酸盐的质量，μg；V_1 为样品处理液的总体积，mL；V_2 为测定用样液的体积，mL。

六、注意事项

1. 本法所用硫酸锌为蛋白质沉淀剂。

2. 显色的 pH 值应在 1.9～3.0 范围内，显色后的稳定性与温度有关。一般显色温度为 15～30℃，于 20～30min 内比色为宜。

实验十三　有机磷农药残留量的测定（气相色谱法）

一、实验目的

1. 掌握气相色谱法测定食品中有机磷农药残留量的原理和方法。

2. 熟悉气相色谱仪的操作方法。

二、实验原理

样品中残留的有机磷农药经有机溶剂提取和净化后，采用气相色谱-火焰光度检测器进行

测定；含有机磷的样品在富氢焰上燃烧，以 HPO 碎片的形式，放射出波长 526nm 的特征光，这种光通过滤光片选择后，由光电倍增管接收，转换成电信号，经微电流放大器放大后被记录下来。根据色谱峰的保留时间定性，根据峰面积或峰高用外标法定量。

本法适用于水果、蔬菜、谷类等作物的有机磷农药残留量的测定。

三、实验材料与仪器

1. 样品

新鲜蔬菜和水果。

2. 试剂

（1）丙酮，二氯甲烷，氯化钠，无水硫酸钠。

（2）助滤剂 Celite 545。

（3）农药标准品　敌敌畏，速灭磷，久效磷，甲拌磷，巴胺磷，二嗪农，乙嘧硫磷，甲基嘧啶硫磷，甲基对硫磷，稻瘟净，水胺硫磷，氧化喹硫磷，稻丰散，甲喹硫磷，克线磷，乙硫磷，乐果，喹硫磷，对硫磷，杀螟硫磷。

（4）农药标准溶液的配制　分别准确称取上述农药标准品，用二氯甲烷为溶剂，分别配制成 1.0mg/mL 的标准贮备液，贮于冰箱中 4℃保存。使用时用二氯甲烷稀释配成单一品种的标准使用液（1.0μg/mL）。再根据各农药品种的食品中含量或最小检出限，吸取不同量的标准贮备液，用二氯甲烷稀释成混合标准使用液。

3. 器材

组织捣碎机，粉碎机，旋转蒸发仪，气相色谱仪：附有火焰光度检测器（FPD），微量进样器；其他器材：天平、烧杯、量筒、布氏漏斗、500mL 分液漏斗、玻璃漏斗、10mL 容量瓶。

四、实验步骤

1. 样品提取

（1）水果、蔬菜　称取 50.00g 样品，置于 300mL 烧杯中，加入 50mL 水和 100mL 丙酮，用组织捣碎机提取 1～2min。匀浆液经铺有两层滤纸和约 10g Celite 545 的布氏漏斗减压抽滤，从滤液中分取 100mL 移至 500mL 分液漏斗中。

（2）谷物　称取 25.00g 样品，置于 300mL 烧杯中，以下步骤同上。

2. 净化与浓缩

向分液漏斗中加入 10～15g 氯化钠使溶液呈饱和状态。猛烈振摇 2～3min，静置分层，使丙酮从水相中盐析出来；水相用 50mL 二氯甲烷振摇 2min，再静置分层。将丙酮与二氯甲烷提取液合并，经装有 20～30g 无水硫酸钠的玻璃漏斗脱水滤入 250mL 圆底烧瓶中，再以约 40mL 二氯甲烷分数次洗涤容器和无水硫酸钠，洗液并入烧瓶中。用旋转蒸发器浓缩至约 2mL，用二氯甲烷定容至 5～20mL。供 GC 分析。

3. 气相色谱测定

（1）色谱条件

色谱柱：①玻璃柱 2.6m×3mm，填装涂有 4.5%DC-200+2.5%OV-17 的 Chromosorb W AW DMCS（80～100 目）的担体；②玻璃柱 2.6m×3mm，填装涂有 1.5%DCOE-1 的 Chromosorb W AW DMCS（60～80 目）的担体。

检测器：火焰光度检测器。

温度：柱箱 240℃，汽化室 260℃，检测器 270℃。

气体流速：氮气（N_2）50mL/min，氢气（H_2）100mL/min，空气 50mL/min。

(2) 测定　吸取 2～5μL 农药混合标准使用液及样品净化液注入气相色谱仪中，以保留时间定性，以样品的峰面积或峰高与标准比较定量。

五、实验结果

$$\text{样品中 } i \text{ 组分有机磷农药的含量(mg/kg)} = \frac{A_i V_1 V_3 E_{Si} \times 1000}{A_{Si} V_2 V_4 m \times 1000}$$

式中，A_i 为样品中 i 标准组分的峰面积，积分单位；A_{Si} 为混合标准液中 i 标准组分的峰面积，积分单位；V_1 为样品提取液的总体积，mL；V_2 为净化用提取液的总体积，mL；V_3 为浓缩后的定容体积，mL；V_4 为进样体积，mL；E_{Si} 为注入气相色谱仪的 i 标准组分的质量，ng；m 为样品质量，g。

六、注意事项

1. 本法适用于水果、蔬菜、谷类等作物的有机磷农药残留量的测定。若为肉类、鱼类、油脂等样品，在提取之后需经进一步的液-液分配、微型柱净化等步骤除去干扰物质后，才能进行气相色谱测定。

2. 色谱柱也可采用石英毛细管柱（0.32mm×25m，内涂 OV-101 或 BP5 固定液），使用氮磷检测器进行测定。

实验十四　食品中砷含量的测定（银盐比色法）

一、实验目的

1. 掌握银盐比色法测定食品中总砷含量的原理和方法。
2. 熟练掌握分光光度计的使用方法。
3. 掌握样品的湿法消化或干法灰化的方法。

二、实验原理

样品经消化后，以碘化钾、氯化亚锡将高价砷还原为三价砷，然后与锌粒和酸产生的新生态氢反应生成砷化氢气体，用银盐溶液（二乙基二硫代氨基甲酸银-三乙醇胺-三氯甲烷溶液）吸收后生成棕红色的胶态银，颜色的深浅与总砷含量成正比，可用于比色测定。反应式如下：

$$H_3AsO_4 + 2KI + 2HCl \longrightarrow H_3AsO_3 + I_2 + 2KCl + H_2O$$

$$H_3AsO_4 + SnCl_2 + 2HCl \longrightarrow H_3AsO_3 + SnCl_4 + H_2O$$

$$H_3AsO_3 + 3Zn + 6HCl \longrightarrow AsH_3\uparrow + 3ZnCl_2 + 3H_2O$$

砷化氢被银盐溶液吸收，并且在有机碱（三乙醇胺）存在下，生成棕红色胶态银：

$$AsH_3 + 6AgDDTC \longrightarrow AsAg_3 \cdot 3AgDDTC + 3HDDTC$$

$$AsAg_3 \cdot 3AgDDTC + 3NR_3 + 3HDDTC \longrightarrow 6Ag + As(DDTC)_3 + 3(NR_3H)(DDTC)$$

三、实验材料与仪器

1. 试剂

(1) 硝酸-高氯酸混合溶液（4∶1）

(2) 氧化镁。

(3) 硝酸镁溶液（150g/L）　称取 15g 硝酸镁［$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$］溶于水中，并稀释至 100mL。

（4）盐酸（1∶1）

（5）硫酸（1∶1）

（6）酸性氯化亚锡溶液（400g/L） 称取 40g 氯化亚锡（$SnCl_2 \cdot 2H_2O$），加盐酸溶解并稀释至 100mL，加入数颗金属锡粒。

（7）乙酸铅棉花 用乙酸铅溶液（100g/L）浸透脱脂棉后，压除多余溶液，并使疏松，在 100℃以下干燥，贮存于玻璃瓶中。

（8）碘化钾溶液（150g/L） 贮存于棕色瓶中。

（9）无砷锌粒

（10）6%硫酸 量取 6.0mL 硫酸，加于 80mL 水中，冷后再加水稀释至 100mL。

（11）氢氧化钠溶液（200g/L）

（12）二乙基二硫代氨基甲酸银-三乙醇胺-三氯甲烷溶液 称取 0.25g 二乙基二硫代氨基甲酸银［$(C_2H_5)_2NCS_2Ag$］，置于乳钵中，加少量三氯甲烷研磨，移入 100mL 量筒中，加入 1.8mL 三乙醇胺，再用三氯甲烷分次洗涤乳钵，洗液一并移入量筒中；再用三氯甲烷稀释至 100mL，放置过夜，滤入棕色瓶中贮存。

（13）砷标准溶液（0.10mg/mL） 称取 0.1320g 在硫酸干燥器中干燥过的或在 100℃干燥 2h 的三氧化二砷，加 5mL 20%氢氧化钠溶液，溶解后加 25mL 6%硫酸溶液，移入 1000mL 容量瓶中，用新煮沸并冷却的蒸馏水定容，贮存于棕色玻塞瓶中。

（14）砷标准使用液（1.0μg/mL） 吸取 1.0mL 砷标准溶液，置于 100mL 容量瓶中，加入 1mL6%硫酸溶液，加水稀释至刻度，临用时现配。

2. 器材

（1）可见分光光度计

（2）测砷装置 如图 5-6 所示。

① 100～150mL 锥形瓶：19 号标准口。

② 导气管：管口 19 号标准口或经碱处理后洗净的橡皮塞，与锥形瓶密合时不应漏气。管的另一端管径为 1.0mm。

③ 吸收管：10mL 刻度离心管作吸收管用。

（3）250mL 或 500mL 定氮瓶，可调电炉（或电炉带调压器），高温炉，天平，瓷坩埚或铂坩埚，50mL 或 100mL 容量瓶，坩埚钳，其他器材：玻璃珠、吸管、量筒等。

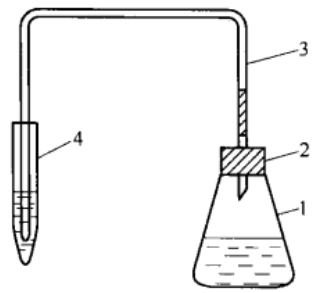


图 5-6 银盐法测砷装置
1—150mL 锥形瓶；2—磨口玻塞（或橡皮塞）；3—玻璃弯管；4—10mL 刻度离心管

四、实验步骤

1. 样品消化

（1）硝酸-高氯酸-硫酸法 称取样品适量（5.0～10.0g），置于 250～500mL 定氮瓶中，先加水少许使湿润，加数粒玻璃珠、10～15mL 硝酸-高氯酸混合液，放置片刻，小火缓缓加热，待作用缓和，放冷。沿瓶壁加入 5mL 或 10mL 硫酸，再加热，至瓶中液体开始变成棕色时，不断沿瓶壁滴加硝酸-高氯酸混合液至有机质分解完全。加大火力至产生白烟，待瓶口白烟冒净后，瓶内液体再产生白烟为消化完全，该溶液应澄清透明无色或微带黄色，放冷。加 20mL 水煮沸，除去残余的硝酸至产生白烟为止，如此处理两次，放冷，定容至 50mL 或 100mL（定容后的溶液每 10mL 相当于 1g 样品，相当于加入硫酸量 1mL）。

吸取 5～10mL 水代替样品，加与消化样品相同量的硝酸-高氯酸混合液和硫酸，按相同操作方法做试剂空白试验。

（2）硝酸-硫酸法　以硝酸代替硝酸-高氯酸混合液进行操作。

（3）灰化法　称取5.00g粉碎混匀样品，置于坩埚中，加1g氧化镁及10mL 15%硝酸镁溶液，混匀，浸泡4h。于低温或置水浴锅上蒸干，用小火炭化至无烟后移入高温炉中加热至550℃，灼烧3～4h，冷却后取出。加5mL水湿润灰分，用细玻棒搅拌，再用少量水洗下玻棒上附着的灰分至坩埚内。放水浴上蒸干后移入高温炉550℃灰化2h，冷却后取出。加5mL水湿润灰分，再缓缓加入10mL盐酸（1∶1），然后将溶液移入50mL容量瓶中，坩埚用1∶1盐酸洗涤3次，每次5mL；再用水洗涤3次，每次5mL，洗液并入容量瓶中，加水至刻度，摇匀（定容后的溶液每10mL相当于1g样品，其加入盐酸量不少于1.5mL。全量供银盐法测定时，不必再加盐酸）。

按同一操作方法做试剂空白试验。

2. 测定

① 吸取一定量的消化后的定容溶液（相当于5g样品）及同量的试剂空白液，分别置于150mL锥形瓶中，补加硫酸至总量为5mL，加水至50mL。

② 吸取0、2.0mL、4.0mL、6.0mL、8.0mL、10.0mL砷标准使用液（相当于0、2.0μg、4.0μg、6.0μg、8.0μg、10.0μg砷），分别置于150mL锥形瓶中，加水至40mL，再加10mL 1∶1硫酸。

③ 湿法消化液。于样品消化液、试剂空白液及砷标准溶液中各加入3mL碘化钾溶液、0.5mL酸性氯化亚锡溶液，混匀，静置15min；各加入3g无砷锌粒，立即塞上装有乙酸铅棉花的导气管，并使管尖端插入盛有4mL银盐溶液的离心管的液面下，在常温下反应45min后，取下离心管，加三氯甲烷补足4mL。用1cm比色杯，以零管作参比，于波长520nm处测定吸光度，并绘制标准曲线进行比较定量。

④ 灰化法消化液。取灰化法消化液及试剂空白液分别置于150mL锥形瓶中。吸取0、2.0mL、4.0mL、6.0mL、8.0mL、10.0mL砷标准使用液（相当0、2.0μg、4.0μg、6.0μg、8.0μg、10.0μg砷），分别置于150mL锥形瓶中，加水至43.5mL，再加6.5mL盐酸。以下按③自“于样品消化液”起依法操作。

五、实验结果

$$\text{样品中砷的含量(mg/kg 或 mg/L)}=\frac{(m_1-m_2)\times 1000}{m\times\frac{V_2}{V_1}\times 1000}$$

式中，m_1为测定用样品消化液中砷的含量，μg；m_2为试剂空白液中砷的含量，μg；m为样品质量（或体积），g（mL）；V_1为样品消化液的总体积，mL；V_2为测定用样品消化液的体积，mL。

六、注意事项

1. 在消化过程中应注意防止暴沸或爆炸，因高氯酸具有易爆性。

2. 样品消化液中残余的硝酸须驱尽，硝酸的存在影响反应与显色，会导致结果偏低，必要时可增加硫酸的加入量。

3. 导气管中塞入乙酸铅棉花，是为了去除可能产生的硫化氢的干扰，并使产生的AsH_3气体均匀。

4. 酸的用量对结果有影响，还受锌粒的规格、大小的影响，锌粒不宜太细，以免反应过于激烈。

5. 砷化氢吸收液（银盐溶液）由二乙基二硫代氨基甲酸银与三氯甲烷和三乙醇胺组成，

配制试剂时应放置过夜或在水浴上微热助溶，轻微浑浊可过滤除去，所配制的吸收液必须是澄清的。试剂保存良好可使用一周。

6. $SnCl_2$ 试剂不稳定，在空气中能被氧化而失去还原剂的作用，因此配制时加盐酸溶解为酸性氯化亚锡溶液；同时，加入数粒金属锡以保持溶液稳定的还原性。氯化亚锡在本实验中的作用是还原五价砷为三价砷，并还原反应中生成的碘以及在锌粒表面沉积以抑制产生氢气作用过猛。

实验十五　食品中铜、锌含量测定（原子吸收光谱法）

一、实验目的

1. 掌握原子吸收光谱法测定食品中铜、锌含量的原理和方法。
2. 熟悉原子吸收分光光度计的操作使用方法。
3. 掌握微波消化样品的方法。

二、实验原理

原子吸收光谱法是基于基态自由原子对特定波长光吸收的一种测量方法，它的基本原理是使光源辐射出的待测元素的特征光谱通过样品的蒸气时，被蒸气中待测元素的基态原子所吸收，在一定范围与条件下，入射光被吸收而减弱的程度与样品中待测元素的含量呈正相关，由此可得出样品中待测元素的含量。用原子吸收法同时测定铜和锌，互相间没有干扰，它们分别在 324.7nm 及 213.9nm 处有共振吸收。

三、实验材料与仪器

1. 试剂

（1）硝酸

（2）过氧化氢

（3）铜标准贮备液（1mg/mL）　称取金属铜（纯度 99.999%）1.000g，溶于 50mL 硝酸（1+1）中，用水稀释定容至 1L。

（4）铜标准使用液（50μg/mL）　吸取铜标准贮备液（1mg/mL）0.50mL，用水稀释定容至 100mL。

（5）锌标准贮备液（1mg/mL）　称取金属锌（纯度 99.999%）1.000g，溶于 50mL 盐酸（1+1）中，用水稀释定容至 1L。

（6）锌标准使用液（50μg/mL）　吸取锌标准贮备液（1mg/mL）0.50mL，用水稀释定容至 100mL。

（7）5%硝酸溶液

2. 器材

原子吸收分光光度计，微波消解装置，聚四氟乙烯微波消化罐（具不锈钢外套）；其他器材：天平、10mL 容量瓶、吸管、量筒等。

四、实验步骤

1. 样品微波消解

① 准确称取粉碎混匀的样品 0.500g，置于干燥的聚四氟乙烯内罐中，加 5mL 硝酸和 2mL H_2O_2，盖好内盖，旋紧不锈钢外套，置于消解微波炉中。

② 根据样品实际情况，在控制器上编辑消解程序，按控制器的提示对升温斜率、保护压力、各步温度、保持时间等进行设置（也可直接调用已经存储的消解程序）。一般最高温度180℃，相应压力900～1200kPa，保持时间6～12min。

③ 将排风按钮置自动挡，按“运行”开始消解程序。

④ 待程序运行结束，关闭排风按钮，开启密封安全门；稍冷后，取出消化罐（注意保护温度传感器）。

⑤ 用滴管将消化液吸入10mL容量瓶中，用少量水多次洗涤消化罐，洗液并入容量瓶中并定容至刻度，混匀。同时做试剂空白。

2. 测定

按照仪器说明书调节有关参数至最佳状态，以氘灯或塞曼效应作背景校正，将样品消化液和试剂空白液进行抽吸、雾化、原子化，分别测定出Cu、Zn的吸光度值，以标准曲线法进行定量。

仪器工作条件为：

Cu，铜空心阴极灯，灯电流5mA，波长324.7nm，空气-乙炔火焰（贫焰），通带宽度1.0nm；

Zn，锌空心阴极灯，灯电流3mA，波长213.9nm，空气-乙炔火焰（贫焰），通带宽度1.0nm。

3. 标准曲线的绘制

准确吸取铜、锌标准使用液（50μg/mL）各0、0.5mL、1.0mL、1.5mL、2.0mL、2.5mL，分别置于50mL容量瓶中，用5%硝酸溶液稀释至刻度，摇匀（若原子吸收分光光度计为双通道，则铜、锌标准液可合在一起配制）。然后按样品消化液的测定方法操作，绘制出标准曲线。

五、实验结果

$$\text{样品中铜、锌含量(mg/kg)}=\frac{(c_1-c_2)\times V\times 1000}{m\times 1000}$$

式中，c_1为由标准曲线上查得的样品消化液中Cu或Zn的浓度，μg/mL；c_2为由标准曲线上查得的试剂空白液中Cu或Zn的浓度，μg/mL；V为样品消化液定容的体积，mL；m为样品质量，g。

六、注意事项

1. 消化罐洗净后要擦干，在内罐外壁和外罐内壁之间不要有任何水分和试剂。
2. 样品要放到罐中间，让溶剂淹没，不能挂在壁上。挂在壁上易炭化，会损坏消化罐。
3. 如同时消解多个样品时，要用样品量多的消化罐作监控温度和压力的罐。

实验十六　食用植物油综合检验实验

一、感官检验

1. 色泽

将样品混匀并过滤，倒入烧杯（直径50mm，杯高100mm）中，油层高度不得小于5mm。在室温下先对着自然光观察，然后再置于白色背景前借其反射光线观察并按下列词句记述：白色、灰白色、柠檬色、淡黄色、黄色、橙色、棕黄色、棕色、棕红色、棕褐色等。

2. 气味及滋味

将样品倒入150mL烧杯中，置于水浴上加热至50℃，用玻璃棒迅速搅拌，嗅其气味；并蘸取少许样品，辨尝其滋味，然后按下列词句记述：正常、焦糊、酸败、苦辣等。

二、理化检验

1. 油脂酸价的测定

(1) 实验目的　掌握油脂酸价的测定原理和方法。

(2) 实验原理　油脂中的游离脂肪酸用氢氧化钾标准溶液滴定，根据所消耗碱液的量计算油脂的酸值；每克油脂消耗氢氧化钾的质量（mg），称为酸值（酸价）。反应式如下：

$$RCOOH + KOH \longrightarrow RCOOK + H_2O$$

(3) 实验材料与仪器

① 试剂

a. 酚酞指示液：1%乙醇溶液。

b. 中性醇醚混合液：按乙醚与乙醇2∶1混合，用氢氧化钾溶液（3g/L）中和至对酚酞指示液呈中性。

c. 0.05mol/L氢氧化钾标准溶液。

② 器材。碱式滴定管，250mL锥形瓶，天平。

(4) 方法与步骤　称取3.00～5.00g熔化或混匀的样品置于锥形瓶中，加入50mL中性醇醚混合液，振摇使油溶解，必要时可置热水中温热促其溶解。冷至室温，加入酚酞指示液2～3滴，用0.05mol/L氢氧化钾标准溶液滴定至初现微红色，且30s内不褪色为终点。

(5) 实验结果

$$油脂酸值(mg/g) = \frac{Vc \times 56.11}{m}$$

式中，V为样品消耗氢氧化钾标准溶液的体积，mL；c为氢氧化钾标准溶液的浓度，mol/L；m为样品质量，g；56.11为1mol/L氢氧化钾溶液1mL相当于氢氧化钾质量（mg）。

(6) 注意事项

① 滴定所用KOH标准溶液的量应不超过乙醇量的1/5，以免皂化水解；如过量则有浑浊沉淀，造成结果偏低。

② 当样液颜色较深时，可改用1%麝香草酚蓝乙醇溶液作指示剂。

③ 测定蓖麻油的酸价时，只用中性乙醇，不用混合溶剂，因为蓖麻油不溶于乙醚。

2. 油脂过氧化值的测定

(1) 实验目的　掌握油脂过氧化值的测定原理和方法。

(2) 实验原理　油脂氧化酸败过程中产生的过氧化物，与碘化钾作用生成游离碘，用硫代硫酸钠标准溶液滴定碘，计算含量。反应式如下：

$$CH_3COOH + KI \longrightarrow CH_3COOK + HI$$

$$2HI + R^1\text{—}CH\text{—}CH\text{—}R^2 \longrightarrow R^1\text{—}CH\text{—}CH\text{—}R^2 + I_2 + H_2O$$

(3) 实验材料与仪器

① 试剂

a. 碘化钾饱和溶液：称取14g碘化钾，加10mL水溶解，必要时微热助溶；冷却后贮于棕色瓶中。

b. 三氯甲烷-冰乙酸混合液：量取40mL三氯甲烷，加60mL冰乙酸，混匀。

c. 0.002mol/L硫代硫酸钠标准溶液。

d. 1%淀粉指示液：称取可溶性淀粉 0.5g，加少许水，调成糊状，倒入 50mL 沸水中混匀，煮沸。临用时现配。

② 器材。酸式棕色滴定管，天平，250mL 碘量瓶。

(4) 实验步骤　称取 2.00～3.00g 熔化并混匀的样品，置于碘量瓶中，加 30mL 三氯甲烷-冰乙酸混合液，使样品完全溶解。加入 1.00mL 碘化钾饱和溶液，盖好瓶塞，并轻轻振摇 0.5min，然后在暗处放置 3min。取出加 100mL 水，摇匀，立即用 0.002mol/L 硫代硫酸钠标准溶液滴定，至淡黄色时加 1mL 淀粉指示液，继续滴定至蓝色消失为终点。同时做试剂空白试验。

(5) 实验结果

$$\text{油脂的过氧化值(g/100g)}=\frac{(V_1-V_2)\times c\times 0.1269}{m}\times 100$$

$$\text{(或)油脂的过氧化值(meq/kg)}=X\times 78.8$$

式中，V_1 为样品消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积，mL；V_2 为试剂空白消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积，mL；c 为硫代硫酸钠标准溶液的浓度，mol/L；m 为样品质量，g；0.1269 为 1mol/L 硫代硫酸钠标准溶液 1mL 相当于碘的质量，g；X 为样品的过氧化值，g/100g；78.8 为换算因子。

(6) 注意事项

① 碘与硫代硫酸钠的反应必须在中性或弱酸性溶液中进行。若溶液呈碱性，将发生副反应；若溶液呈强酸性，则 $Na_2S_2O_3$ 会发生分解。

② 碘易挥发，故滴定时溶液的温度不能高，且不要剧烈振摇。

③ 为防止 I^- 被氧化，应置于黑暗处，避免光线照射；析出 I_2 后，应立即用 $Na_2S_2O_3$ 溶液滴定，滴定速度应适当快些。

④ 淀粉指示液应新鲜配制；在滴定过程中，由于淀粉吸附碘，故不要过早加入，以免吸附太多碘而解吸不完全，产生测定误差。

⑤ 日光能促进 $Na_2S_2O_3$ 分解，应使用棕色滴定管盛装。

3. 油脂 TBA 值的测定

(1) 实验目的　掌握油脂 TBA 值的测定原理和方法。

(2) 实验原理　由于油脂中不饱和脂肪酸氧化分解而产生的丙二醛可在酸性条件下被蒸馏出来，并与硫代巴比妥酸（TBA 试剂）反应，生成红色的 TBA 色素，因而可用于比色测定。

(3) 实验材料与仪器

① 试剂

a. 三氯甲烷。

b. 三氯乙酸混合液：称取三氯乙酸 7.5g 和 EDTA 二钠（乙二胺四乙酸二钠）0.1g，用水溶解并稀释至 100mL。

c. TBA 试剂（0.02mol/L）：准确称取 0.2883g TBA（α-硫代巴比妥酸），溶于水中并稀释至 100mL（如 TBA 不易溶解，可加热助溶），贮于棕色瓶中。

d. 丙二醛标准贮备液（100μg/mL）：准确称取 1,1,3,3-四乙氧基丙烷 0.3150g，用水溶解后稀释至 1000mL，置冰箱中保存。

e. 丙二醛标准使用液（1μg/mL）：准确吸取丙二醛标准贮备液 1mL，稀释至 100mL，置冰箱中。

② 器材。分光光度计，恒温水浴锅，天平，100mL 具塞锥形瓶，25mL 比色管，离心机；其他器材：量筒、漏斗、吸管。

(4) 实验步骤

① 丙二醛标准曲线的绘制。准确吸取丙二醛标准使用液 1.0mL、2.0mL、3.0mL、4.0mL、5.0mL（相当于丙二醛 1μg、2μg、3μg、4μg、5μg），分别置于 25mL 比色管中，加 5.00mL TBA 试剂，混匀，盖塞，置于 90℃水浴中保温 40min。取出冷却 1h，移入小试管离心 5min，上清液倾入 25mL 比色管中，加 5.00mL 三氯甲烷，混匀，静置分层。上清液倒入 1cm 比色皿中，以蒸馏水为参比，于波长 535nm 处测定吸光度值。同时作试剂空白试验。绘制标准曲线或计算直线回归方程。

② 样品处理。把样品脂肪于 70℃水浴熔化成均匀的油液（液体样品混匀），准确称取 10g，置于 100mL 具塞锥形瓶中，加入 50mL 三氯乙酸混合液振摇 0.5h（保持油脂熔化状态，如凝结即在 70℃水浴上略微加热）。用双层滤纸过滤，除去油脂；滤液重复用双层滤纸过滤一次。

③ 测定。准确吸取上述滤液 5mL，置于 25mL 比色管中，同①记录 A_{535nm} 值，并求出相应的样品含量 A。

(5) 实验结果

(1) 丙二醛标准曲线的绘制　以丙二醛含量为横坐标，以吸光度值为纵坐标，在 Excel 工作表中绘制标准曲线，并得到其回归方程和相关系数 R^2。

(2) 样品中 TBA 检测

$$\text{油脂的 TBA 值(丙二醛含量,mg/100g)}=\frac{A_1-A_2}{m\times\frac{5}{50}\times1000}\times100$$

式中，A_1 为从标准曲线上查得样品中丙二醛含量，μg；A_2 为从标准曲线上查得试剂空白中丙二醛含量，μg；m 为样品质量，g。

4. 羰基价的测定

(1) 实验目的　掌握油脂羰基价的测定原理和方法。

(2) 实验原理　羰基化合物与 2,4-二硝基苯肼的反应产物，在碱性溶液中形成褐红色或酒红色，在 440nm 处测定吸光度，计算羰基价。

(3) 实验材料与仪器

① 试剂

a. 精制乙醇：取 1000mL 无水乙醇，置于 2000mL 圆底烧瓶中，加入 5g 铝粉、10g KOH，接好标准磨口的回流冷凝管，水浴中加热回流 1h，然后用全玻璃蒸馏装置蒸馏收集馏出液。

b. 精制苯：取 500mL 苯，置于 1000mL 分液漏斗中，加入 50mL 硫酸，小心振摇 5min，开始振摇时注意放气。静置分层，弃去硫酸层；再加 50mL 硫酸重复处理一次，将苯层移入另一分液漏斗中，用水洗涤三次，然后经无水硫酸钠，用全玻璃蒸馏装置蒸馏收集馏出液。

c. 2,4-二硝基苯肼溶液：称取 50mg 2,4-二硝基苯肼，溶于 100mL 精制苯中。

d. 三氯乙酸溶液：称取 4.3g 固体三氯乙酸，加 100mL 精制苯溶解。

e. 氢氧化钾-乙醇溶液：称取 4g 氢氧化钾，加 100mL 精制乙醇使其溶解，置冷暗处过夜，取上清液使用。溶液变黄褐色则应重新配制。

f. 三苯膦溶液（0.5g/L）：称取 100mg 三苯膦，用苯溶解后转入 200mL 容量瓶中并定容至刻度。

② 器材。分光光度计，25mL 具塞试管，恒温水浴锅。

(4) 实验步骤　称取约 0.025～0.10g 样品，置于 25mL 具塞试管中，加入 5mL 三苯膦溶液（三苯膦还原氢过氧化物为非羰基化合物）溶解样品，室温暗处放置 30min；再加 3mL 三氯乙酸溶液及 5mL 2,4-二硝基苯肼溶液，仔细振摇混匀，在 60℃水浴中加热 30min，冷却后沿试管壁慢慢加入 10mL 氢氧化钾-乙醇溶液，使成为两液层，盖好，剧烈振摇混匀，放置

10min。以 1cm 比色杯，用不含三苯膦的试剂空白调节零点，含三苯膦还原剂的试剂空白吸收作校正，于波长 440nm 处测定吸光度。

(5) 实验结果

$$\text{样品的羰基价(mmol/kg)}=\frac{A}{m\times V\times 854}\times 1000$$

式中，A 为测定时样液的吸光度；m 为样品质量，g；V 为测定用样液的体积，mL；854 为各种醛的毫摩尔的平均值。

5. 游离棉酚——紫外分光光度法

(1) 实验目的　掌握棉籽油中游离棉酚的测定原理和方法。

(2) 实验原理　样品中游离棉酚经丙酮提取后，在 378nm 处有最大吸收，其吸收值与棉酚量在一定范围内成正比，与标准系列比较定量。

(3) 实验材料与仪器

① 试剂

a. 丙酮 (70%)：将 350mL 丙酮加水稀释至 500mL。

b. 棉酚标准溶液 (1mg/mL)：准确称取 0.1g 棉酚，置于 100mL 容量瓶中，加丙酮 (70%) 溶解并稀释至刻度。

c. 棉酚标准使用液 (50.0μg/mL)：吸取棉酚标准溶液 5.0mL，置于 100mL 容量瓶中，加丙酮 (70%) 溶解并稀释至刻度。

② 器材。紫外分光光度计，电动振荡器；其他器材：天平、100mL 具塞锥形瓶、吸管等。

(4) 方法与步骤　称取 1.00g 精制棉油或 0.20g 粗棉油，置于 100mL 具塞锥形瓶中，加入 20.0mL 丙酮 (70%)，并加入玻璃珠 3～5 粒，在电动振荡器上振荡 30min，然后在冰箱中放置过夜。取上清液，过滤备用。

吸取 0、0.1mL、0.2mL、0.4mL、0.8mL、1.6mL、2.4mL 棉酚标准使用液（相当于 0、5μg、10μg、20μg、40μg、80μg、120μg 棉酚），分别置于 100mL 具塞试管中，各加入丙酮 (70%) 至 10mL，混匀，静置 10min。取样品滤液及标准液于 1cm 石英比色杯中，以丙酮 (70%) 调节零点，于 378nm 波长处测定吸光度，并绘制标准曲线比较定量。

(5) 实验结果

$$\text{样品中游离棉酚的含量(g/100g)}=\frac{A}{m\times 1000\times 1000}\times 100\times 2$$

式中，A 为测定用样液中游离棉酚的质量，μg；m 为样品质量，g。

6. 残留溶剂——气相色谱法

(1) 实验目的　掌握气相色谱法测定油脂中残留溶剂的原理和方法。

(2) 实验原理　将植物油样品放入密封的平衡瓶中，在一定温度下，使残留溶剂汽化达到平衡时，取液上气体注入气相色谱仪中测定，与标准曲线比较定量。

(3) 实验材料与仪器

① 试剂

a. N,N-二甲基乙酰胺 (DMA)：吸取 1mL DMA 放入 100～150mL 顶空瓶中，于 50℃放置 0.5h，取液上气 0.1mL 注入气相色谱仪，在 0～4min 内无干扰即可使用。如有干扰可用超声波处理 30min，或通入氮气用曝气法蒸去干扰。

b. 六号溶剂标准溶液：称取洗净干燥的具塞 20～25mL 气化瓶的质量为 m_3，瓶中放入比气化瓶体积少 1mL 的 DMA，密塞后称量为 m_2。用 1mL 注射器取约 0.5mL 六号溶剂标准溶液通过塞注入瓶中（勿与溶液接触），混匀，准确称量为 m_1。用下式计算六号溶剂油的浓度。

$$X=\frac{m_1-m_2}{(m_2-m_3)/0.935}\times 1000$$

式中，X 为六号溶剂的浓度，mg/mL；m_1 为 m_2 加六号溶剂的质量，g；m_2 为瓶、塞和 DMA 的质量，g；m_3 为瓶和塞的质量，g；0.935 为 DMA 在 20℃时的密度，g/mL。

② 器材

a. 气化瓶（顶空瓶，图 5-7）：体积为 100～150mL，具塞（气密性试验：把 1mL 己烷放入瓶中，密塞后放入 60℃热水中 30min，密封处无气泡外漏）。

b. 气相色谱仪：带氢火焰离子化检测器。

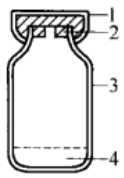


图 5-7 气化瓶（顶空瓶）
1—铝盖；2—橡胶塞；3—输液瓶；4—试样

（4）实验步骤

① 气相色谱条件。色谱柱：内径 3mm、长 3m 的不锈钢柱，内装涂有 5% DEGS 的白色担体 102（60～80 目）；检测器：氢火焰离子化检测器；温度：气化室温度 140℃，色谱柱温度 60℃；载气流速：（氮气）30mL/min；氢气 50mL/min；空气 500mL/min。

② 实验方法

a. 测定：称取 25.00g 油样，置于气化瓶中，密塞后于 50℃恒温箱中加热 30min；取出后立即用微量注射器或注射器吸取 0.10～0.15mL 液上气体（与标准曲线进样体积一致）注入气相色谱仪，记录单组分或多组分（用归一化法）的峰高或峰面积，与标准曲线比较定量。

b. 标准曲线绘制：取预先在气相色谱仪上测试六号溶剂量较低的油为曲线制备的体底油（或经 70℃开放式赶掉大部分残留溶剂的食用油），分别称取 25.00g 放入六只气化瓶中，密塞。通过塞子注入六号溶剂标准溶液 0、20μL、40μL、60μL、80μL、100μL（含量分别为 0、0.02X、0.04X、0.06X、0.08X、0.10Xμg），放入 50℃恒温箱中，平衡 30min。分别取液上气体注入气相色谱仪，各响应值扣除空白值后，绘制标准曲线（多个色谱峰用归一化法计算）。

（5）实验结果

$$油样中六号溶剂的含量(mg/kg)=m_1/m$$

式中，m_1 为测定气化瓶中六号溶剂的质量，μg；m 为样品质量，g。

7. 油中非食用油的鉴别（对常见的三类非食用油进行定性鉴别）

（1）桐油

① 三氯化锑-三氯甲烷界面法。取油样 1mL 移入试管中，沿管壁加 1mL 三氯化锑-三氯甲烷溶液（10g/L），使试管内溶液分为两层；然后在水浴中加热约 10min，如有桐油存在，则溶液两层分界面上出现紫红色至深咖啡色环。

② 亚硝酸法。取油样 5～10 滴于试管中，加 2mL 石油醚使油溶解，如有沉淀物时，过滤一次；然后加入结晶亚硝酸钠少许，并加入 1mL 硫酸（1＋1）摇匀，静置，如有桐油存在，油液浑浊，并有絮状沉淀物，开始呈白色，放置后变黄色（本法适用于豆油、棉油等深色油中桐油的检出，但不适用于梓油或芝麻油中桐油的检出）。

③ 硫酸法。取油样数滴置白瓷板之上，加硫酸 1～2 滴，如有桐油存在，则出现深红色并且凝成固体，颜色渐加深，最后成炭黑色。

（2）矿物油　取 1mL 样品置于锥形瓶中，加入 1mL 氢氧化钾溶液（600g/L）及 25mL 乙醇，接空气冷凝管回流皂化约 5min，皂化时应振摇使加热均匀。皂化后加 25mL 沸水，摇匀，如浑浊或有油状物析出，表示有不能皂化的矿物油存在。

（3）大麻油　取样品和对照大麻油各 10μL，点样于硅胶 G 薄层板，此薄层板厚 0.25～0.3mm，105℃下活化半小时。油太黏稠则用 5 倍苯稀释，再进行点样，点样量稍多一点，约 10～20μL。展开剂用苯，显色剂为 0.15%牢固蓝盐 B 溶液（临时配制）。当斑点和对照颜色及比移值相当时表示有大麻油。

胡麻油、芝麻油用牢固蓝盐 B 显色时也呈红色，但在薄层板上比移值较小。

三、综合分析与讨论

汇总实验结果记录于表 5-2。

表 5-2　食用油综合检验结果

检验名称		检验结果
感官检验	色泽	
	气味	
	滋味	
理化检验	油脂酸价/(mg/g)	
	油脂过氧化值/(g/100g)	
	油脂 TBA 值/(mg/100g)	
	羰基价的测定/(mmol/kg)	
	游离棉酚/(g/100g)	
	残留溶剂/(mg/mL)	

第六章　食品营养学实验指导

实验一　营养平衡调查实验

一、实验目的

营养平衡调查是了解调查人群的膳食中营养素的摄取情况及其营养供给量之间的对比情况；了解与营养状况有密切关系的调查群体的体质与健康状态，发现营养不平衡的人群，为进一步做好营养监测和研究营养政策提供基础情况；做某些综合性、专题性科学研究，如某些地方病、营养相关疾病与营养的关系，研究某些生理常数、营养水平判定指标等。

本实验旨在通过自主选题、独立设计调查问卷、汇总回馈信息、统计分析数据与撰写结论等实验教学环节，使学生掌握开展营养平衡调查的基本方法，并提高学生对调查信息汇总、统计分析等方面的能力，增强学生运用理论知识与实践反馈信息进行综合分析营养问题的能力。

二、实验基本要求

营养平衡调查实验采用问卷调查法，主要包括以下 5 个方面。

1. 自主选题、论证

根据专业知识、相关文献（要求 10 篇以上）以及自己关注的营养问题，确定调查对象，撰写选题论证书，要求阐明选题意义并对开展调查的必要性和紧迫性分析，同时也要求对调查时间、地点、调查实施策略等方面进行综合分析和设计，以提高调查选题的严密性和可实施性。

2. 独立设计调查问卷

根据调查人群的特征，能够独立设计营养平衡调查问卷。调查问卷中必须包含调查对象的基本信息（性别、年龄、身高、体重、职业等）；有关蛋白质、脂肪、碳水化合物三大产能营养素摄取嗜好问题；以及饮食习惯和生活习惯等方面的问题。

3. 调查方案实施

调查问卷要求回收 30 份以上。

4. 数据采集与汇总分析

在 Excel 表格中汇总调查问卷相关信息，准确计算每个被调查个体的三大产能营养素的需求量与供给量情况、主要饮食习惯问题、生活习惯问题等方面，绘制统计图和统计表，进行营养平衡问题综合分析。

5. 撰写调查报告

调查报告正文包括前言、调查内容与方法、调查结果与分析以及调查结论四个主要内容。

三、营养平衡问卷示例

（一）机关公务员的调查问卷

1. 基本情况调查

年龄：□40 岁以下　□41～45 岁　□46～50 岁　□51～55 岁　□56 岁以上

性别：□男 □女　　身高：　　cm　　体重：　　kg

2. 早餐膳食调查

（1）您30天内早餐主食食用的量是多少？（请在符合的项目中画勾）

次　数	米饭			面包			油条			馒头（发糕）			包子（大）			鸡蛋		
	2两	4两	以上	1个	2个	以上	1根	2根	以上	1个	2个	以上	1个	2个	以上	1个	2个	以上
≥25次																		
≥20次																		
≥15次																		
≥10次																		
≥5次																		

（2）您早餐副食食用的量是多少？

次　数	豆制品			腌制类咸菜			炝拌类咸菜			牛奶或豆浆（以250mL为一个计数单位）			粥类		
	1份	2份	以上	1份	2份	以上	1份	2份	以上	1袋	2袋	以上	1碗	2碗	以上
≥25次															
≥20次															
≥15次															
≥10次															
≥5次															

3. 午餐膳食调查（以5天的工作日膳食食谱做计算）

（1）每日进食素菜 □1份 □2份 □2份以上，其中您所偏爱的蔬菜种类为（可多选）：

次　数	茄子	豆角	白菜	马铃薯	辣椒	菠菜	海带	大头菜	菜花	芹菜	豆芽	黄瓜	豆腐	圆葱	其他
4次															
3次															
2次															
1次															

（2）每日进食肉菜 □半份 □1份 □2份 □2份以上，其中您所偏爱肉的种类为（可多选）：

次　数	猪肉	牛肉	鸡肉	羊肉	胖头鱼	鲅鱼	虾	黄花鱼	其他
4次、5次									
3次									
2次									
1次或从不									

（3）每日进食主食总量

A. 米饭 □2 两 □3 两 □4 两 B. 面食 □2 两 □3 两 □4 两

C. 馒头（发糕） □1 个 □2 个 □2 个以上 D. 其他_____

4. 晚餐膳食调查

（1）以一个星期为一个计数周期，在餐馆食用大餐的次数为：

□无 □1 次 □2 次 □2 次以上

（2）普通性的晚餐进食素菜 其中您所偏爱的蔬菜种类为（可多选）：

份数或次数	茄子	豆角	白菜	马铃薯	辣椒	菠菜	海带	大头菜	菜花	芹菜	豆芽	黄瓜	豆腐	圆葱	其他
4 份															
3 份															
1～2 份															
一周食用次数															

（3）普通性的晚餐进食肉菜 □1 份 □2 份 □2 份以上，其中您所偏爱的肉的种类为（可多选）：

份数或次数	猪肉	牛肉	鸡肉	羊肉	鱼肉	虾、蟹等	黄花鱼	其他
4～5 份								
3 份								
1～2 份								
一周食用次数								

（4）普通性的晚餐进食主食总量为：

A. 大米 □2 两 □4 两 □4 两以上 B. 面食 □2 两 □4 两 □4 两以上

C. 粥类 □1 碗 □2 碗 D. 其他_____

5. 其他食品膳食调查

（1）每日饮用水为：

A. 白开水 B. 矿泉水 C. 纯净水 D. 碳酸饮料 E. 其他

容量约：□250mL □500mL □750mL □1000mL □1500mL

（2）运动时间段为 ：

□早饭前 □上午 □ 午饭后 □ 晚饭后； 白天运动时间 ：□半小时 □1 小时，晚餐后运动时间 ：□1 小时 □2 小时 □2 小时以上

（3）每日食用的水果为：

□梨 □1 个 □2 个 □3 个以上 □苹果 □1 个 □2 个 □3 个以上

□西瓜 □1 个 □2 个 □3 个以上 □葡萄 □2 两 □半斤 □1 斤

（4）是否喝酒：□是 □否， （本问题主要针对糖尿病、高血压病因调查）

数量（一周）为 □一次 □二次 □三次 □四次 □五次 □五次以上

啤酒：数量（一周）为 □2 瓶以下 □3～4 瓶 □5～6 瓶 □7～8 瓶 □9～10 瓶 □10 瓶以上

白酒：数量（一周）为 □2 两以下 □3～4 两 □5～6 两 □7～8 两 □9～10 两 □1 斤以上

（5）是否服用营养保健品：□是 □否

□每日服用深海鱼油（清血）：□一粒　□二粒　□三粒　□三粒以上

□补钙产品：□一粒　□二粒　□三粒　□三粒以上　□三瓶　□六瓶　□六瓶以上　□其他

6. 疾病调查

（1）每日坐在办公室中，您是否经常感觉到颈部疲劳？　□是　□否

（2）每日坐在办公室中，您是否经常感觉到腰部疲劳？　□是　□否

（3）是否有糖尿病？□是　□否；是否有高血压？□是　□否

（二）出租司机的调查问卷

性别：□男 □女；年龄：　；身高：　cm；体重：　kg；驾龄：　；每日驾车时间：

作息时间：_____点起床，_____点休息，是否午休（　）_____分钟。

• 三餐摄取主要食物调查

食物种类	早餐	午餐	晚餐	宵夜	食物种类	早餐	午餐	晚餐	宵夜
米饭/两					方便面/袋				
面条/碗					火腿肠/根				
油条/根					小鸡炖蘑菇/勺				
豆浆/杯					里脊干豆腐/勺				
豆腐脑/碗					小鸡炖土豆/勺				
烙饼/个					五花肉豆腐白菜/勺				
烧饼/个					脊骨烩酸菜/勺				
馒头/个					拆骨肉烩酸菜/勺				
肉包/个					拆骨肉豆腐白菜/勺				
菜包/个					烧茄子/勺				
肉饺/个					西红柿炒鸡蛋/勺				
菜饺/个					小鸡干豆腐/勺				
馄饨/碗					红烧肉干豆腐/勺				
大米粥/碗					其他				
黑米粥/碗									
二米粥/碗									
小米粥/碗									
八宝粥/碗									
鸡蛋/个									
饼干/个									
面包/个									
牛奶/袋									
燕麦片/克									

• 饮食习惯调查：

1. 您日常饮用多少水？（以 550 毫升矿泉水瓶为标准）

少于 1 瓶（　）1～2 瓶（　）3～4 瓶（　）5～6 瓶（　）7 瓶以上（　）

2. 每天工作时间上厕所频率：

没有（ ）1～2 次（ ）3～4 次（ ）5～6 次（ ）7 次以上（ ）

3. 您经常喝的饮品是：

花生露（ ）咖啡（ ）碳酸饮料（ ）果汁饮料（ ）牛奶饮料（ ）酸奶或乳酸饮料（ ） 红茶（ ）绿茶（ ）花茶（ ） 橘子汁（ ）杏仁露（ ）其他_____

4. 您在休息时是否有饮酒的习惯？ 是（ ），否（ ）

5. 一般什么时候喝酒？

吃烧烤的时候喝（ ）中午休息的时候喝（ ）在家晚饭后喝（ ）睡前喝（ ）其他_____

6. 您一般喝什么酒？

啤酒（ ）白酒（ ）红酒（ ）葡萄酒（ ）其他_____

一次喝多少（ ）一周喝（ ）次

7. 是否（什么时候）喝汤？

没有（ ）饭前喝（ ）边吃饭边喝（ ）饭后喝（ ）

8. 您有吸烟的习惯吗？

没有（ ）1～5 根/天（ ）6～10 根/天（ ）11～20 根/天（ ）

1～1.5 包/天（ ）1.5～2 包/天（ ）2 包以上（ ）

9. 您经常会什么时候抽烟？

边开车边抽（ ）饭前抽（ ）饭后抽（ ）困的时候抽（ ）休闲的时候抽（ ）睡前抽（ ）瘾上来就抽（ ）其他_____

10. 您经常吃的水果

苹果（ ）黄香蕉苹果（ ）梨（ ）大山楂（ ）桃（ ）柿子（ ）葡萄（ ）枣子（ ）橙子（ ）橘子（ ）菠萝（ ）香瓜（ ）香蕉（ ）柚子（ ）西瓜（ ）其他_____

一周（ ）次，一次（ ）个

11. 经常吃烧烤吗？

没有（ ）1～2 次/月（ ）3～4 次/月（ ）5～6 次/月（ ）7～8 次/月（ ）9 次/月以上（ ）

12. 是否经常吃火锅？

没有（ ）1～3 次/月（ ）4～8 次/月（ ）8 次/月以上（ ）

13. 是否经常吃油炸食品？ 是（ ）否（ ）

14. 是否喜欢吃胡萝卜？ 是（ ）否（ ）

15. 是否经常吃鱼？

没有（ ）一周一次（ ）一周两次（ ）一周三次（ ）一周四次以上（ ）

16. 您隔多久去一次肯德基或麦当劳？

A. 每天（ ） B. 每星期（ ） C. 每月（ ）

D. 从来不去（ ） E. 不确定（ ）

17. 每次用餐时间：

A. 小于 5 分钟（ ） B. 5 至 10 分钟（ ） C. 10 至 15 分钟（ ）

D. 15 至 20 分钟（ ） E. 20 至 30 分钟（ ） F. 30 分钟以上（ ）

18. 吃饭的口味：

偏咸（ ）偏辣（ ）偏甜（ ）偏酸（ ）偏清淡（ ）偏油腻（ ）其他_____

19. 是否经常胃痛？ 是（ ）否（ ）

实验二　营养食谱的设计实验

一、实验目的

1. 营养食谱可将各类人群的膳食营养素参考摄入量具体落实到用膳者的每日膳食中，使他们能按需要摄入足够的能量和各种营养素，同时又防止营养素或能量的过多摄入。

2. 可根据群体对各种营养素的需要，结合当地食物的品种、生产季节、经济条件和厨房烹调水平，合理选择各类食物，达到平衡膳食。

3. 通过编制营养食谱，不但有助于指导食堂管理人员有计划地管理食堂膳食，而且有助于家庭有计划地管理家庭膳食，并且有利于成本核算。

二、营养食谱设计的理论依据

1. 中国居民膳食营养素参考摄入量

中国居民膳食营养素参考摄入量（DRIs）是每日平均膳食营养素摄入量的一组参考值，包括平均需要量（EAR）、推荐摄入量（RNI）、适宜摄入量（AI）和可耐受最高摄入量（UL）。制定 DRIs 的目的在于更好地指导人们膳食实践，评价人群的营养状况并为国家食物发展供应计划提供依据。DRIs 是营养配餐中能量和主要营养素需要量的确定依据。DRIs 中的 RNI 是个体适宜营养素摄入水平的参考值，是健康个体膳食摄入营养素的目标。编制营养食谱时，首先需要以各营养素的推荐摄入量（RNI）为依据确定需要量，一般以能量需要量为基础。制定出食谱后，还需要以各营养素的 RNI 为参考评价食谱的制定是否合理，如果与 RNI 相差不超过 10%，说明编制的食谱合理可用，否则需要加以调整。

2. 中国居民膳食指南和平衡膳食宝塔

膳食指南本身就是合理膳食的基本规范，为了便于宣传普及，它将营养理论转化为一个通俗易懂、简明扼要的可操作性指南，其目的就是合理营养、平衡膳食、促进健康。因此，膳食指南的原则就是食谱设计的原则，营养食谱的制定需要根据膳食指南考虑食物种类、数量的合理搭配。

平衡膳食宝塔则是膳食指南量化和形象化的表达，是人们在日常生活中贯彻膳食指南的工具。宝塔建议的各类食物的数量既以人群的膳食实践为基础，又兼顾食物生产和供给的发展，具有实际指导意义。同时平衡膳食宝塔还提出了实际应用时的具体建议，如同类食物互换的方法，对制定营养食谱具有实际指导作用。根据平衡膳食宝塔，我们可以很方便地制定出营养合理、搭配适宜的食谱。

3. 食物成分表

食物成分表是营养配餐工作必不可少的工具。要开展好营养配餐工作，必须了解和掌握食物的营养成分。中国疾病预防控制中心营养与食品安全所于 2002 年出版了新的食物成分表，所列食物仍以原料为主，各项食物都列出了产地和食部，包括了 1506 条食物的 31 项营养成分。“食部”是指按照当地的烹调和饮食习惯，把从市场上购买的样品去掉不可食用的部分之后，所剩余的可食部分所占的比例。列出食部的比例是为了便于计算市品每千克（或其他零售单位）的营养素含量。市品的食部不是固定不变的，它会因食物的运输、储藏和加工处理不同而有改变。因此当认为食部的实际情况和表中食部栏内所列数字有较大出入时，可以自己实际测量食部的量。通过食物成分表，我们在编制食谱时才能将营养素的需要量转换为食物的需要

量，从而确定食物的品种和数量。在评价食谱所含营养素摄入量是否满足需要时，同样需要参考食物成分表中各种食物的营养成分数据。

4. 营养平衡理论

（1）膳食中三种宏量营养素需要保持一定的比例平衡　膳食中蛋白质、脂肪和碳水化合物除了各具特殊的生理功能外，其共同特点是提供人体所必需的能量。所以在讨论能量时也把它们称为“产能营养素”。在膳食中，这三种产能营养素必须保持一定的比例，才能保证膳食平衡。若按其各自提供的能量占总能量的百分比计，则蛋白质占10%～15%、脂肪占20%～30%、碳水化合物占55%～65%。倘若打破这种适宜的比例，将不利于健康。

（2）膳食中优质蛋白质与一般蛋白质应该保持一定的比例　食物蛋白质中所含的氨基酸有20多种，其中有8种是人体需要，但是不能在体内合成，必须由食物供给的必需氨基酸，人体对这8种必需氨基酸的需要量需要保持一定的比例。动物性蛋白质和大豆蛋白质所含的必需氨基酸种类齐全、比例恰当，人体利用率高，称为优质蛋白质。常见食物蛋白质的氨基酸组成都不可能完全符合人体需要的比例，多种食物混合食用，才容易使膳食氨基酸组成符合人体需要的模式。因此，在膳食构成中要注意将动物性蛋白质、一般植物性蛋白质和大豆蛋白质进行适当的搭配，并保证优质蛋白质占蛋白质总供给量的1/3以上。

（3）饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸之间的平衡　不同食物来源的脂肪，其脂肪酸组成不同，有饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸及多不饱和脂肪酸。饱和脂肪酸可使血胆固醇升高，不饱和脂肪酸特别是必需脂肪酸以及鱼贝类中的二十碳五烯酸（EPA）和二十二碳六烯酸（DHA）则具有多种有益的生理功能。因此必须保证食物中多不饱和脂肪酸的比例。一般认为，在脂肪提供的能量占总能量的30%范围内，饱和脂肪酸提供的能量占总能量的7%左右，单不饱和脂肪酸提供的能量占总能量的比例在10%以内，剩余的能量均由多不饱和脂肪酸提供为宜。动物脂肪相对含饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸多，多不饱和脂肪酸含量较少。植物油主要含不饱和脂肪酸。两种必需脂肪酸亚油酸和亚麻酸主要存在于植物油中，鱼贝类食物含二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸相对较多。为了保证每日膳食能摄入足够的不饱和脂肪酸，必须保证油脂中植物油的摄入。

三、设计原则

1. 设计依据

膳食宝塔（图6-1）和膳食指南的基本信息。

膳食指南的具体内容有：

- 食物多样、谷类为主；
- 多吃蔬菜、水果和薯类；
- 每天吃奶类、豆类或其制品；
- 经常吃适量的鱼、禽、蛋、瘦肉，少吃肥肉和荤油；
- 食量与体力活动要平衡，保持适宜体重；
- 吃清淡少盐的膳食；
- 饮酒应限量；
- 吃清洁卫生、不变质的食物。

2. 计算依据

① 一日三餐能量比例为：早餐∶午餐∶晚餐＝3∶4∶4。

早餐所需能量＝总能量×30%，午餐所需能量＝总能量×40%，

晚餐所需能量＝总能量×40%。

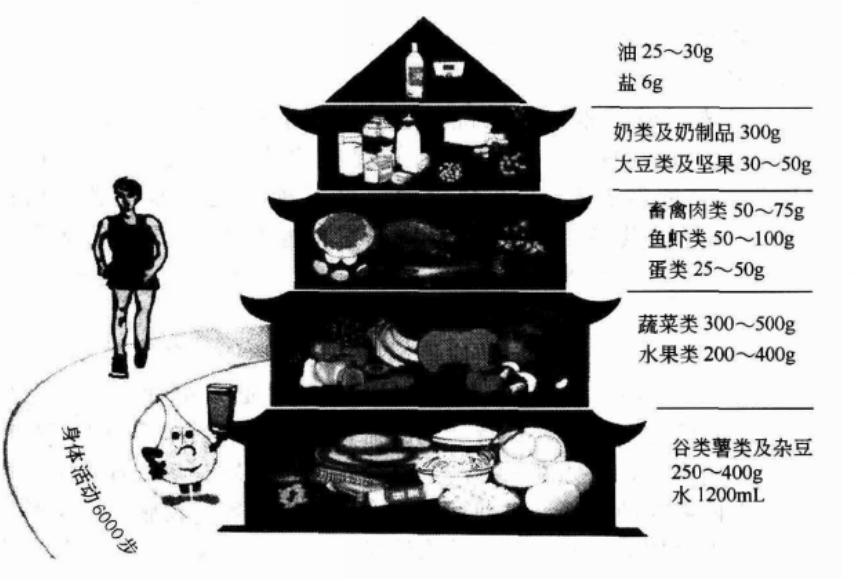


图 6-1　膳食宝塔

② 一日三餐三大产能营养素产能比例为：蛋白质：脂肪：碳水化合物＝15%：25%：60%。

③ 一日三餐三大产能需求质量（g）为：

早餐蛋白质需求量(g)＝早餐能量×15%÷16.7

早餐脂肪需求量(g)＝早餐能量×25%÷37.6

早餐碳水化合物需求量(g)＝早餐能量×60%÷16.8

同理计算午餐、晚餐的三大营养素需求质量（g）。

四、营养食谱的设计步骤

1. 确定食谱类型。
2. 合理选择原料。
3. 确定全日、每餐能量摄取量和三大热能营养素供给量。
4. 主食品种和数量的确定。
5. 副食品种和数量的确定。
6. 平衡调配制定出营养食谱。

五、食谱的调整与确定

1. 核定与校正营养素供给量（营养分析）。
2. 核定和校正饭菜用量。
3. 确定营养食谱。

实验三　食物样品中营养成分综合分析实验

一、实验目的

在食品分析、食品生物化学等课程学习的基础上，以自主选题的食物原料、半成品、成品

三类样品中蛋白质、脂肪、碳水化合物等营养素含量变化情况为研究对象，提高学生独立设计、综合分析等方面的能力。

二、实验基本要求

1. 自主选题与方案设计。
2. 设计方案的具体实施。
3. 实验数据采集与汇总分析。
4. 撰写实验报告。

三、实验设计方案示例

1. 鸡蛋及其在不同的加工方式中营养成分综合分析。具体分析方案如图 6-2 所示，测定结果记录于表 6-1。

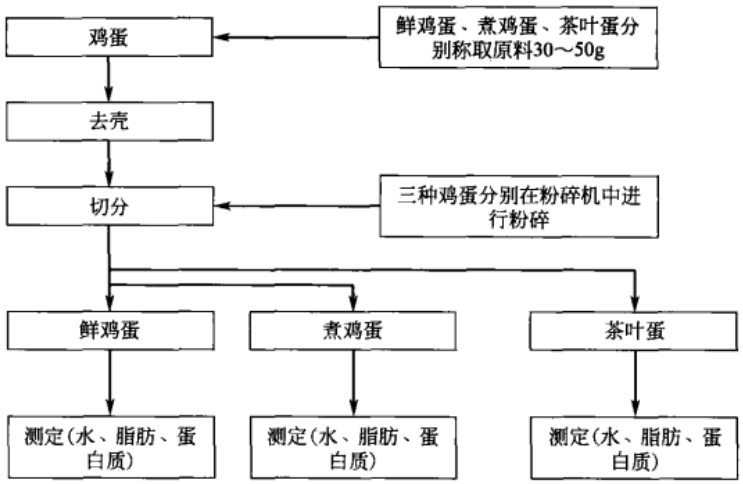


图 6-2　不同的鸡蛋加工方式中营养成分综合分析方案

表 6-1　样品中营养成分的测定结果

类　型	水分/%	脂肪/%	蛋白质/%
鲜鸡蛋			
煮鸡蛋			
茶叶蛋			

2. 胡萝卜加工方式中营养成分综合分析。具体分析方案如图 6-3 所示，测定结果记录于表 6-2。

表 6-2　样品中营养成分的测定结果

类　型	蛋白质/%	还原糖/%	粗纤维/%
胡萝卜浆			
胡萝卜汁			
胡萝卜渣			

3. 马铃薯、水煮马铃薯、油炸马铃薯三类样品中蛋白质、脂肪、还原糖、水分、灰分、

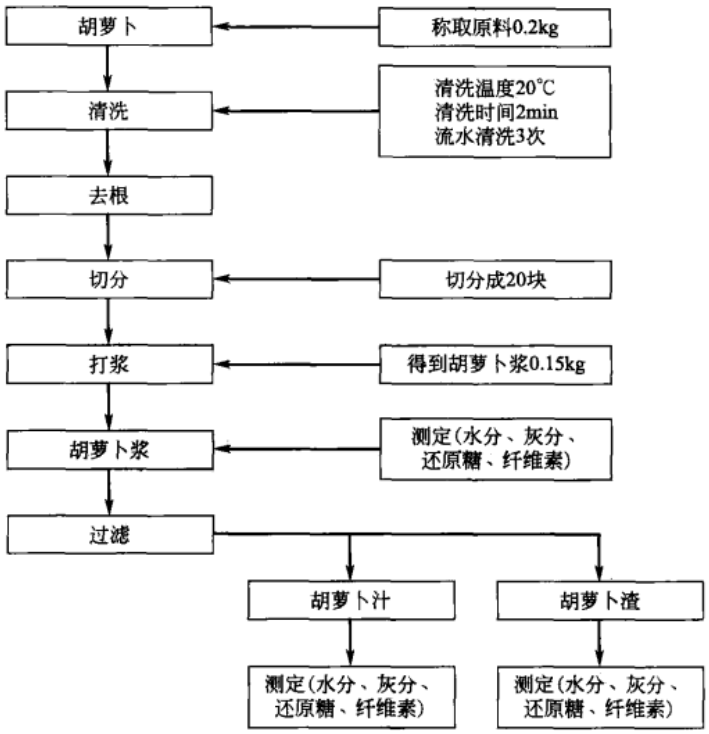


图 6-3　胡萝卜加工方式中营养成分综合分析方案

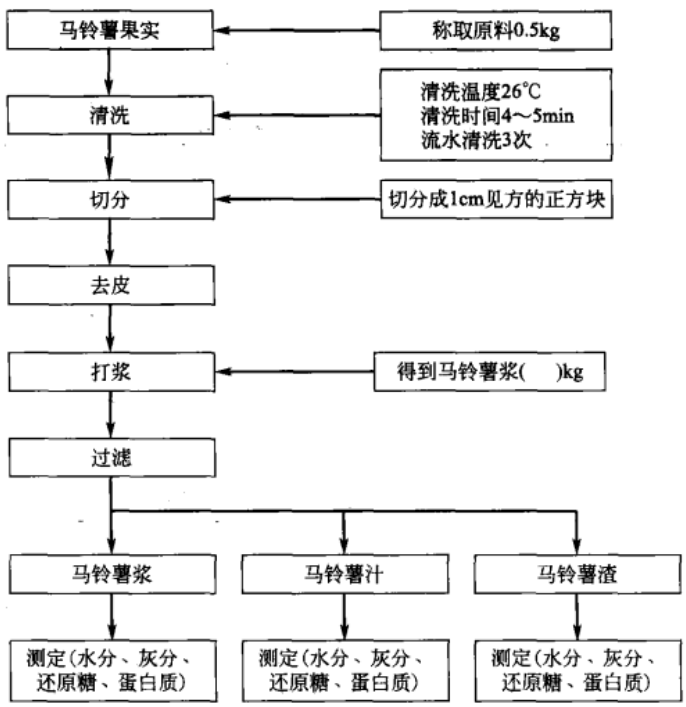


图 6-4　马铃薯、水煮马铃薯、油炸马铃薯三类样品中营养成分综合分析方案

粗纤维的测定分析，比较三种加工工艺营养素的损失情况并综合分析（图 6-4）。测定结果记录于表 6-3。

表 6-3 样品中营养成分的测定结果

类　型	水分/%	灰分/%	脂肪/%	蛋白质/%	还原糖/%	粗纤维/%
马铃薯						
水煮后的马铃薯						
薯片						

第七章　食品微生物学实验指导

实验一　显微镜油镜的使用实验

一、实验目的

1. 学习显微镜低倍镜和高倍镜的使用方法。
2. 了解油镜的基本原理。
3. 掌握油镜的使用方法。

二、实验材料与仪器

1. 菌种

枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）、金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）的染色装片。

2. 器材

显微镜，擦镜纸。

3. 试剂

香柏油，二甲苯。

三、实验步骤

1. 观察前的准备

① 将显微镜置于平稳的实验台上，镜座距实验台边沿约为 4cm。坐正，练习用左眼观察。

② 调节光源。将低倍物镜转到工作位置，把光圈完全打开，聚光器升至与载物台相距约 1mm 左右。转动反光镜采集光源，光线较强的天然光源宜用平面镜，光线较弱的天然光源或人工光源宜用凹面镜，对光至视野内均匀明亮为止。观察染色装片时，光线宜强；观察未染色装片时，光线不宜太强。

2. 低倍镜观察染色装片

① 上升镜筒，将枯草芽孢杆菌染色装片置于载物台上，用标本夹夹住，将观察位置移至物镜正下方。

② 物镜降至距装片 0.5cm 处，适当缩小光圈然后两眼从目镜观察，转动粗调节器使物镜逐渐上升（或使镜台下降）至发现物像时，改用细调节器调节到物像清楚为止。

③ 移动装片，把合适的观察部位移至视野中心。

3. 高倍镜观察

① 眼睛离开目镜从侧面观察，旋转转换器，将高倍镜转至正下方，注意避免镜头与玻片相撞。

② 由目镜观察，仔细调节光圈，使光线的明亮度适宜。用细调节器校正焦距使物镜清晰为止。

③ 将最适宜观察部位移至视野中心，绘图。不要移动装片位置，准备用油镜观察。

4. 油镜观察

① 提起镜筒约 2cm，将油镜转至正下方。在玻片标本的镜检部位（镜头的正下方）滴一滴香柏油。

② 从侧面注视，小心慢慢降下镜筒，使油镜浸在油中至油圈不扩大为止，镜头几乎与装片接触，但不可压及装片，以免压碎玻片，损坏镜头。

③ 将光线调亮，左眼从目镜观察，用粗调节器将镜筒徐徐上升（切忌反方向旋转），当视野中有物像出现时，再用细调节器校正焦距。如因镜头下降未到位或镜头上升太快未找到物像，必须再从侧面观察，将油镜降下，重复操作直至物像看清为止。仔细观察并绘图。

④ 再次观察。提起镜筒，换上金黄色葡萄球菌染色装片，依次用低倍镜、高倍镜和油镜观察，绘图。重复观察时可比第一次少加香柏油。

5. 镜检完毕后的工作

① 移开物镜镜头。

② 取出装片。

③ 清洁油镜。油镜使用完毕后，须用擦镜纸擦去镜头上的香柏油，再用擦镜纸蘸少许二甲苯擦掉残留的香柏油，最后再用干净的擦镜纸擦干残留的二甲苯。

④ 擦净显微镜，将各部分还原。将接物镜呈“八”字形降下，不可使其正对聚光器，同时降下聚光器，转动反光镜使其镜面垂直于镜座。最后套上镜罩，对号放入镜箱中，置阴凉干燥处存放。

四、实验结果

分别绘出在高倍镜和油镜下观察到的枯草芽孢杆菌及金黄色葡萄球菌的形态，注明物镜放大倍数和总放大率。

五、注意事项

1. 使用油镜必须按先用低倍镜和高倍镜观察，再用油镜观察。

2. 下降镜头时，一定要从侧面注视，切忌用眼睛对着目镜、边观察边下降镜头的错误操作，以免压碎玻片而损坏镜头。

3. 使用二甲苯擦镜头时，注意二甲苯不能过多，以防溶解固定透镜的树脂。

4. 注意保持显微镜的洁净，对金属部分要用软布擦拭，擦镜头必须用擦镜纸，切勿用手或用普通布、纸等，以免损坏镜头。

六、思考题

1. 用油镜便于观察细菌的依据是什么？
2. 使用油镜应特别注意哪些问题？
3. 当物镜从低倍镜转到高倍镜和油镜时，对照明度有何要求？应如何调节？

实验二　细菌的简单染色与革兰染色实验

一、实验目的

1. 学习细菌染色的原理和方法。
2. 掌握细菌的简单染色法和革兰染色法。

二、实验原理

用于生物染色的染料主要有碱性染料、酸性染料和中性染料三大类。碱性染料的离子带正电荷，能和带负电荷的物质结合。因细菌蛋白质等电点较低，当它生长于中性、碱性或弱酸性

的溶液中时常带负电荷，所以通常采用碱性染料（如美蓝、结晶紫、碱性复红或孔雀绿等）使其着色。酸性染料的离子带负电荷，能与带正电荷的物质结合。当细菌分解糖类产酸使培养基pH下降时，细菌所带正电荷增加，因此易被伊红、酸性复红或刚果红等酸性染料着色。中性染料是前两者的结合物又称复合染料，如伊红美蓝、伊红天青等。

简单染色法是只用一种染料使细菌着色以显示其形态，简单染色不能辨别细菌细胞的构造。

革兰染色法可将所有的细菌区分为革兰阳性菌（G^+）和革兰阴性菌（G^-）两大类，是细菌学上最常用的鉴别染色法。

其原因在于两类细菌的细胞壁结构和成分的不同所决定的。G^-菌的细胞壁中含有较多易被乙醇溶解的类脂质，而且肽聚糖层较薄、交联度低，故用乙醇或丙酮脱色时溶解了类脂质，增加了细胞壁的通透性，使初染的结晶紫和碘的复合物易于渗出，结果细菌就被脱色，再经蕃红复染后就成红色。G^+菌细胞壁中肽聚糖层厚且交联度高，类脂质含量少，经脱色剂处理后反而使肽聚糖层的孔径缩小，通透性降低，因此细菌仍保留初染时的颜色。

三、实验材料与仪器

1. 菌种

培养12～16h的枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*），培养24h的大肠杆菌（*Escherichia coli*）

2. 试剂

结晶紫，卢哥碘液，95%酒精，蕃红，复红，二甲苯，香柏油。

3. 器材

废液缸，洗瓶，载玻片，接种环，酒精灯，擦镜纸，吸水纸，火柴，显微镜。

四、实验步骤

1. 简单染色镜检

（1）涂片　取干净载玻片一块，在载玻片的左、右各加一滴蒸馏水，按无菌操作法取菌涂片，左边涂枯草芽孢杆菌，右边涂大肠杆菌，做成浓菌液。再取干净载玻片一块将刚制成的枯草芽孢杆菌浓菌液挑2～3环涂在左边制成薄的涂面，将大肠杆菌的浓菌液取2～3环涂在右边制成薄涂面。亦可直接在载玻片上制薄的涂面，注意取菌不要太多。

（2）晾干　让涂片自然晾干或者在酒精灯火焰上方文火烘干。

（3）固定　手执玻片一端，让菌膜朝上，通过火焰2～3次固定（以不烫手为宜）。

（4）染色　将固定过的涂片放在废液缸中的搁架上，加复红染色1～2min。

（5）水洗　用水洗去涂片上的染色液。

（6）干燥　将洗过的涂片放在空气中晾干或用吸水纸吸干。

（7）镜检　先低倍观察，再高倍观察，并找出适当的视野后，将高倍镜转出，在涂片上加香柏油一滴，将油镜头浸入油滴中仔细调焦观察细菌的形态。

2. 革兰染色镜检

（1）涂片、晾干、固定均与简单染色涂片相同。

（2）结晶紫染色　将玻片置于废液缸玻片搁架上，加适量（以盖满细菌涂面）的结晶紫染色液染色1min。

（3）水洗　倾去染色液，用水小心地冲洗。

（4）媒染　滴加卢哥碘液，媒染1min。

（5）水洗　用水洗去碘液。

(6) 脱色　将玻片倾斜，连续滴加95%乙醇脱色20～25s至流出液无色，立即水洗。

(7) 复染　滴加蕃红复染5min。

(8) 水洗　用水洗去涂片上的蕃红染色液。

(9) 晾干　将染好的涂片放空气中晾干或者用吸水纸吸干。

(10) 镜检　镜检时先用低倍镜，再用高倍镜，最后用油镜观察，并判断菌体的革兰染色反应性。

五、注意事项

1. 革兰染色成败的关键是酒精脱色。如脱色过度，革兰阳性菌也可被脱色而染成阴性菌；如脱色时间过短，革兰阴性菌也会被染成革兰阳性菌。脱色时间的长短还受涂片厚薄及乙醇用量多少等因素的影响，难以严格规定，需要多加练习。

2. 选用幼龄的细菌。G^+菌培养12～16h，*E. coli* 培养24h。若菌龄太老，由于菌体死亡或自溶常使革兰阳性菌转呈阴性反应。

六、实验结果

1. 绘制简单染色的细菌个体形态图。

2. 绘制 *Bacillus subtilis* 和 *Escherichia coli* 的形态图，并注明两菌的革兰染色反应性。

七、思考题

当对未知菌进行革兰染色时，如何保证操作正确及结果可靠？

实验三　细菌的芽孢染色实验

一、实验目的

学习细菌的芽孢染色法。

二、实验原理

细菌的芽孢具有厚而致密的壁，透性低，不易着色，若用一般染色法只能使菌体着色而芽孢不着色（芽孢呈无色透明状）。芽孢染色法就是根据芽孢既难以染色而一旦染上色后又难以脱色这一特点而设计的。所有的芽孢染色法都基于同一个原则，除了用着色力强的染料外，还需要加热，以促进芽孢着色。当染芽孢时，菌体也会着色，再水洗，芽孢染上的颜色难以渗出，而菌体会脱色。然后用对比度强的染料对菌体复染，使菌体和芽孢呈现出不同的颜色，因而能更明显地衬托出芽孢，便于观察。

三、实验材料与仪器

1. 材料

培养36h的枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）。

2. 染色液和试剂

5%孔雀绿水溶液，0.5%蕃红水溶液。

3. 器材

小试管（75mm×10mm），烧杯（300mL），滴管，玻片搁架，接种环，擦镜纸，镊子，

显微镜等。

四、实验步骤

1. 改良的 Schaeffer 和 Fulton 氏染色法

(1) 制备菌液　加 1～2 滴无菌水于小试管中，用接种环从斜面上挑取 2～3 环菌体于试管中并充分打匀，制成浓稠的菌液。

(2) 加染色液　加 5%孔雀绿水溶液 2～3 滴于小试管中，用接种环搅拌使染料与菌液充分混合。

(3) 加热　将此试管浸于沸水浴（烧杯），加热 15～20min。

(4) 涂片　用接种环从试管底部挑数环菌液于洁净的载玻片上，做成涂面，晾干。

(5) 固定　将涂片通过酒精灯火焰 3 次。

(6) 脱色　用水洗直至流出的水中无孔雀绿颜色为止。

(7) 复染　加蕃红水溶液染色 5min 后，倾去染色液，不用水洗，直接用吸水纸吸干。

(8) 镜检　先低倍，再高倍，最后用油镜观察。

结果：芽孢呈绿色，芽孢囊和菌体为红色。

2. Schaeffer 与 Fulton 氏染色法

(1) 涂片　按常规方法将待检细菌制成一薄的涂片。

(2) 晾干固定　待涂片晾干后在酒精灯火焰上通过 2～3 次。

(3) 染色

① 加染色液。加 5%孔雀绿水溶液于涂片处（染料以铺满涂片为度），然后将涂片放在铜板上，用酒精灯火焰加热至染液冒蒸气时开始计算时间，约维持 15～20min。加热过程中要随时添加染色液，切勿让标本干涸（加热时温度不能太高）。

② 水洗。待玻片冷却后，用水轻轻地冲洗，直至流出的水中无染色液为止。

③ 复染。用蕃红液染色 5min。

(4) 水洗、晾干或吸干

(5) 镜检　先用低倍镜，再高倍镜，最后在油镜下观察芽孢和菌体的形态。

结果：芽孢呈绿色，菌体为红色。

五、实验结果

绘出所用材料的芽孢和菌体的形态图。

六、注意事项

1. 供芽孢染色用的菌种应控制菌龄。

2. 改良法在节约染料、简化操作及提高标本质量等方面都较常规涂片法优越，可优先使用。

3. 用改良法时，欲得到好的涂片，首先要制备浓稠的菌液，其次是从小试管中取染色的菌液时，应先用接种环充分搅拌，然后再挑取菌液，否则菌体沉于管底，涂片时菌体太少。

七、思考题

1. 为什么芽孢染色要加热？

2. 为什么芽孢及营养体能染成不同的颜色？

实验四　微生物细胞大小的测定

一、实验目的

了解目镜测微尺和镜台测微尺的构造和使用原理，掌握微生物细胞大小的测定方法。

二、实验原理

微生物细胞的大小是微生物重要的形态特征之一，由于菌体很小，只能通过显微镜来测量。用于测量微生物细胞大小的工具有目镜测微尺和镜台测微尺。

目镜测微尺是一块圆形玻片，在玻片中央把 5mm 长度刻成 50 等分，或把 10mm 长度刻成 100 等分。测量时，将其放在接目镜中的隔板上（此处正好与物镜放大的中间像重叠）来测量经显微镜放大后的细胞物像。由于不同目镜、物镜组合的放大倍数不同，目镜测微尺每格实际表示的长度也不一样，因此目镜测微尺测量微生物大小时须先用置于镜台上的镜台测微尺校正，以求出在一定放大倍数下，目镜测微尺每一小格所代表的相对长度。

镜台测微尺是中央部分刻有精确等分线的载玻片，一般将 1mm 等分为 100 格，每格长 10μm（即 0.01mm），是专门用来校正目镜测微尺的。校正时，将镜台测微尺放在载物台上，

由于镜台测微尺与细胞标本处于同一位置，都要经过物镜和目镜的两次放大成像进入视野，即镜台测微尺随着显微镜总放大倍数的放大而放大，因此从镜台测微尺上得到的读数就是细胞的真实大小，所以用镜台测微尺的已知长度在一定放大倍数下校正目镜测微尺，即可求出目镜测微尺每格所代表的长度，然后移去镜台测微尺，换上待测标本片，用校正好的目镜测微尺在同样放大倍数下测量微生物大小。

三、实验材料与仪器

1. 材料

酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）斜面菌种、枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）染色标本片。

2. 器材

显微镜，目镜测微尺，镜台测微尺，盖玻片，载玻片，滴管，双层瓶，擦镜纸等。

四、实验步骤

1. 目镜测微尺的校正

把目镜的上透镜旋下，将目镜测微尺的刻度朝下轻轻装入目镜的隔板上，把镜台测微尺置于载物台上，刻度朝上。先用低倍镜观察，对准焦距，视野中看清镜台测微尺的刻度后，转动目镜，使目镜测微尺与镜台测微尺的刻度平行，移动推动器，使两尺重叠，再使两尺的“0”刻度完全重合，定位后，仔细寻找两尺第二个完全重合的刻度，计数两重合刻度之间目镜测微尺的格数和镜台测微尺的格数。因为镜台测微尺的刻度每格长 10μm，所以由此可以算出目镜测微尺每格所代表的长度。

例如目镜测微尺 5 小格正好与镜台测微尺 5 小格重叠，已知镜台测微尺每小格为 10μm，则目镜测微尺上每小格长度为＝5×10μm/5＝10μm。

用同法分别校正在高倍镜下和油镜下目镜测微尺每小格所代表的长度。

由于不同显微镜及附件的放大倍数不同，因此校正目镜测微尺必须针对特定的显微镜和附件（特定的物镜、目镜、镜筒长度）进行，而且只能在特定的情况下重复使用，当更换不同放

大倍数的目镜或物镜时，必须重新校正目镜测微尺每一格所代表的长度。

2. 细胞大小的测定

① 将酵母菌斜面制成一定浓度的菌悬液（10^{-2}）。

② 取一滴酵母菌菌悬液制成水浸片。

③ 移去镜台测微尺，换上酵母菌水浸片，先在低倍镜下找到目的物，然后在高倍镜下用目镜测微尺来测量酵母菌菌体的长、宽各占几格（不足一格的部分估计到小数点后一位数）。测出的格数乘上目镜测微尺每格的校正值，即等于该菌的长和宽。一般测量菌体的大小要在同一个标本片上测定 10～20 个菌体，求出平均值，才能代表该菌的大小。而且一般是用对数生长期的菌体进行测定。

④ 同法用油镜测定枯草芽孢杆菌染色标本的长和宽。

五、实验结果

将实验结果填入下列表格（表 7-1～表 7-3）

表 7-1 目镜测微尺校正结果

物　镜	目尺格数	台尺格数	目尺校正值/μm
10×			
40×			
100×			

表 7-2 酵母菌大小测定记录　　单位：格

细胞数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	平均值
长																
宽																

表 7-3 枯草芽孢杆菌大小测定记录　　单位：格

细胞数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	平均值
长																
宽																

注：结果计算公式为

长(μm)＝平均格数×校正值，宽(μm)＝平均格数×校正值

大小表示为宽(μm)×长(μm)。

六、注意事项

1. 镜台测微尺的玻片很薄，在标定油镜头时，要格外注意，以免压碎镜台测微尺或损坏镜头。

2. 标定目镜测微尺时要注意准确对正目镜测微尺与镜台测微尺的重合线。

七、思考题

1. 为什么目镜测微尺必须用镜台测微尺来校正？

2. 在显微镜下直接测定微生物数量有何优缺点？

实验五　微生物的显微直接计数法

一、实验目的

了解血球计数板的构造、计数原理和计数方法，掌握显微镜下直接计数的技能。

二、实验原理

测定微生物细胞数量的方法很多，通常采用的有显微直接计数法和平板计数法。

显微计数法适用于各种含单细胞菌体的纯培养悬浮液，如有杂菌或杂质，常不易分辨。菌体较大的酵母菌或霉菌孢子可采用血球计数板，一般细菌则采用彼得罗夫·霍泽（Petrof Hausser）细菌计数板。两种计数板的原理和部件相同，只是细菌计数板较薄，可以使用油镜观察。而血球计数板较厚，不能使用油镜，计数板下部的细菌不易看清。

血球计数板是一块特制的厚型载玻片，载玻片上有 4 条槽而构成 3 个平台。中间的平台较宽，其中间又被一短横槽分隔成两半，每个半边上面各有一个计数区，计数区的刻度有两种：一种是计数区分为 16 个大方格（大方格用三线隔开），而每个大方格又分成 25 个小方格；另一种是一个计数区分成 25 个大方格（大方格之间用双线分开），而每个大方格又分成 16 个小方格。但不管计数区是哪一种构造，它们都有一个共同特点，即计数区都由 400 个小方格组成。

计数区边长为 1mm，则计数区的面积为 $1mm^2$，每个小方格的面积为 $1/400mm^2$。盖上盖玻片后，计数区的高度为 0.1mm，所以每个计数区的体积为 $0.1mm^3$，每个小方格的体积为 $1/4000mm^3$。

使用血球计数板计数时，先要测定每个小方格中微生物的数量，再换算成每毫升菌液（或每克样品）中微生物细胞的数量。

已知：$1mm^3$ 体积 $=10mm\times10mm\times10mm=1000mm^3$

所以：$1mm^3$ 体积应含有小方格数为 $1000mm^3/(1/4000mm^3)=4\times10^6$ 个小方格，即系数 $K=4\times10^6$。

因此：每毫升菌悬液中含有细胞数＝每个小格中细胞平均数(N)×系数(K)×菌液稀释倍数(d)

三、实验材料与仪器

1. 材料

酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）斜面或培养液。

2. 器材

显微镜，血球计数板，盖玻片（22mm×22mm），吸水纸，计数器，滴管，擦镜纸。

四、实验步骤

1. 视待测菌悬液浓度，加无菌水适当稀释（斜面一般稀释到 10^{-2}），以每小格的菌数可数为度。

2. 取洁净的血球计数板一块，在计数区上盖上一块盖玻片。

3. 将酵母菌悬液摇匀，用滴管吸取少许，从计数板中间平台两侧的沟槽内沿盖玻片的下边缘滴入一小滴（不宜过多），让菌悬液利用液体的表面张力充满计数区，勿使气泡产生，并用吸水纸吸去沟槽中流出的多余菌悬液。也可以将菌悬液直接滴加在计数区上，不要使计数区

两边平台沾上菌悬液，以免加盖盖玻片后，造成计数区深度的升高。然后加盖盖玻片（勿使产生气泡）。

4. 静置片刻，将血球计数板置载物台上夹稳，先在低倍镜下找到计数区后，再转换高倍镜观察并计数。由于生活细胞的折射率和水的折射率相近，观察时应减弱光照的强度。

5. 计数时若计数区是由 16 个大方格组成，按对角线方位，数左上、左下、右上、右下的 4 个大方格（即 100 小格）的菌数。如果是 25 个大方格组成的计数区，除数上述四个大方格外，还需数中央 1 个大方格的菌数（即 80 个小格）。如菌体位于大方格的双线上，计数时则数上线不数下线，数左线不数右线，以减少误差。

6. 对于出芽的酵母菌，芽体达到母细胞大小一半时，即可作为两个菌体计算。每个样品重复计数 2～3 次（每次数值不应相差过大，否则应重新操作），求出每一个小格中细胞平均数（N），按公式计算出每毫升（g）菌悬液所含酵母菌细胞数量。

7. 测数完毕，取下盖玻片，用水将血球计数板冲洗干净，切勿用硬物洗刷或抹擦，以免损坏网格刻度。洗净后自行晾干或用吹风机吹干，放入盒内保存。

五、实验结果

将实验结果填入表 7-4 中。

表 7-4　实验结果记录

计数次数	每个大方格菌数					稀释倍数	试管斜面中的总菌数	平均值
	1	2	3	4	5			
第一次								
第二次								

实验六　培养基的配制与灭菌实验

一、实验目的

1. 了解并掌握培养基的配制及分装方法。
2. 掌握各种实验室灭菌方法及技术。

二、实验原理

培养基是供微生物生长、繁殖、代谢的混合养料。由于微生物具有不同的营养类型，对营养物质的要求也各不相同，加之实验和研究的目的不同，所以培养基的种类很多，使用的原料也各有差异，但从营养角度分析，培养基中一般含有微生物所必需的碳源、氮源、无机盐、生长素以及水分等。另外，培养基还应具有适宜的 pH 值、一定的缓冲能力、一定的氧化还原电位及合适的渗透压。

琼脂是从石花菜等海藻中提取的胶体物质，是应用最广的凝固剂。加琼脂制成的培养基在 98～100℃下融化，于 45℃以下凝固。但如进行多次反复融化，其凝固性降低。

任何一种培养基一经制成即应及时彻底灭菌，以备纯培养用。一般培养基的灭菌采用高压蒸汽灭菌。

三、实验材料与仪器

1. 器皿及材料

天平，称量纸，牛角匙，精密 pH 试纸，量筒，刻度搪瓷杯，试管，锥形瓶，漏斗，分装架，移液管及移液管筒，培养皿及培养皿盒，玻璃棒，烧杯，试管架，铁丝筐，剪刀，酒精灯，棉花，线绳，牛皮纸或报纸，纱布，乳胶管，电炉，灭菌锅，干燥箱。

2. 药品试剂

蛋白胨，牛肉膏，NaCl，K_2HPO_4，琼脂，$NaNO_3$，KCl，$MgSO_4$，$FeSO_4$，蔗糖，麦芽糖，木糖，葡萄糖，半乳糖，乳糖，马铃薯汁，豆芽汁，磷酸铵，5%NaOH 溶液，5%HCl 溶液。

四、实验流程

称药品→溶解→调 pH 值→融化琼脂→过滤分装→包扎标记→灭菌→摆斜面或倒平板。

五、实验步骤

1. 培养基的制备

(1) 称量药品　根据培养基配方依次准确称取各种药品，放入适当大小的烧杯中，琼脂不要加入。蛋白胨极易吸潮，故称量时要迅速。

(2) 溶解　用量筒取一定量（约占总量的 1/2）蒸馏水倒入烧杯中，在放有石棉网的电炉上小火加热，并用玻棒搅拌，以防液体溢出。待各种药品完全溶解后，停止加热，补足水分。如果配方中有淀粉，则先将淀粉用少量冷水调成糊状，并在火上加热搅拌，然后加足水分及其他原料，待完全溶化后，补足水分。

(3) 调节 pH　根据培养基对 pH 的要求，用 5%NaOH 或 5%HCl 溶液调至所需 pH。测定 pH 可用 pH 试纸或酸度计等。

(4) 融化琼脂　固体或半固体培养基须加入一定量琼脂。琼脂加入后，置电炉上边搅拌边加热，直至琼脂完全融化后停止搅拌，并补足水分（水需预热）。注意控制火力不要使培养基溢出或烧焦。

(5) 过滤分装　先将过滤装置安装好。如果是液体培养基，玻璃漏斗中放一层滤纸，如果是固体或半固体培养基，则需在漏斗中放多层纱布，或两层纱布夹一层薄薄的脱脂棉趁热进行过滤。过滤后立即进行分装。分装时注意不要使培养基沾染在管口或瓶口，以免浸湿棉塞，引起污染。液体分装高度以试管高度的 1/4 左右为宜，固体分装量为管高的 1/5，半固体分装一般以试管高度的 1/3 为宜；分装锥形瓶，其装量以不超过锥形瓶容积的一半为宜。

(6) 包扎标记　培养基分装后加好棉塞或试管帽，再包上一层防潮纸，用棉绳系好。在包装纸上标明培养基名称、制备组别和姓名及日期等。

(7) 灭菌　上述培养基应按配方中规定的条件及时进行灭菌。普通培养基为 121℃ 20min，以保证灭菌效果和不损伤培养基的有效成分。培养基经灭菌后，如需要作斜面固体培养基，则灭菌后立即摆放成斜面，斜面长度一般以不超过试管长度的 1/2 为宜；半固体培养基灭菌后，垂直冷凝成半固体培养基。

(8) 倒平板　将需倒平板的培养基，于水浴锅中冷却至 45～50℃，立刻倒平板。

2. 培养基的灭菌

(1) 高压蒸汽灭菌　实验操作方法和注意事项如下所述。

① 加水。打开灭菌锅盖，向锅内加水到水位线。立式消毒锅最好用已煮开过的水，以便减少水垢在锅内的积存。注意水要加够，防止灭菌过程中干锅。

② 装料、加盖。灭菌材料放好后，关闭灭菌器盖，采用对角式均匀拧紧锅盖上的螺旋，使蒸汽锅密闭，勿使漏气。

③ 排气。打开排气口（也叫放气阀）。用电炉加热，待水煮沸后，水蒸气和空气一起从排

气孔排出，当有大量蒸汽排出时，维持5min，使锅内冷空气完全排净。

④ 升压、保压和降压。当锅内冷空气排净时，即可关闭排气阀，压力开始上升。当压力上升至所需压力时，控制电压以维持恒温，并开始计算灭菌时间，待时间达到要求（一般培养基和器皿灭菌控制在121℃，20min）后，停止加热，待压力降至接近“0”时，打开放气阀。注意不能过早过急地排气，否则会由于瓶内压力下降速度比锅内慢而造成瓶内液体冲出容器之外。

⑤ 灭菌后的培养基空白培养。灭菌后的培养基放于37℃培养箱中培养，经24h培养无菌生长，可保存备用；斜面培养基取出后，立即摆成斜面后空白培养；半固体培养基垂直放置凝成半固体深层琼脂后，空白培养。

（2）干热灭菌法　实验操作方法和注意事项如下所述。

① 灭菌前的准备。玻璃器皿等在灭菌前必须经正确包裹和加塞，以保证玻璃器皿灭菌后不被外界杂菌所污染。常用玻璃器皿的包扎和加塞方法如下。

平皿用纸包扎或装在金属平皿筒内；锥形瓶在棉塞与瓶口外再包以厚纸，用棉绳以活结扎紧，以防灭菌后瓶口被外部杂菌所污染；吸管以拉直的曲别针一端放在棉花的中心，轻轻捅入管口，松紧必须适中，管口外露的棉花纤维需通过火焰烧去，灭菌时将吸管装入金属管筒内进行灭菌，也可用纸条斜着从吸管尖端包起，逐步向上卷，头端的纸卷捏扁并拧几下，再将包好的吸管集中灭菌。

② 干燥箱灭菌。将包扎好的物品放入干燥烘箱内，注意不要摆放太密，以免妨碍空气流通；不得使器皿与烘箱的内层底板直接接触。将烘箱的温度升至160～170℃并恒温1～2h，注意勿使温度过高，超过170℃，器皿外包裹的纸张、棉花会被烤焦燃烧。如果是为了烤干玻璃器皿，温度为120℃持续30min即可。温度降至60～70℃时方可打开箱门，取出物品，否则玻璃器皿会因骤冷而爆裂。

用此法灭菌时，绝不能用油纸、蜡纸包扎物品。

③ 火焰灭菌。直接用火焰灼烧灭菌，迅速彻底。对于接种环、接种针或其他金属用具，可直接在酒精灯火焰上烧至红热进行灭菌。此外，在接种过程中，试管或锥形瓶口，也采用通过火焰而达到灭菌的目的。

六、实验结果

1. 记录各种不同物品所用的灭菌方法及灭菌条件（温度、压力等）。
2. 试述高压蒸汽灭菌的过程及注意事项。

七、思考题

1. 制备培养基的一般程序是什么？
2. 做过本次实验后，你认为在制备培养基时要注意哪些问题？
3. 灭菌在微生物学实验操作中有何重要意义？
4. 试述高压蒸汽灭菌的操作方法和原理。
5. 高压蒸汽灭菌时应注意哪些事项？

实验七　微生物的分离、纯化实验

一、实验目的

1. 了解微生物分离和纯化的原理。
2. 掌握常用的分离纯化微生物的方法。

二、实验原理

从混杂微生物群体中获得只含有某一种或某一株微生物的过程称为微生物的分离与纯化。平板分离法普遍应用于微生物的分离与纯化。其基本原理是选择适合于待分离微生物的生长条件，如营养成分、酸碱度、温度和氧等要求，或加入某种抑制剂造成只利于该微生物生长，而抑制其他微生物生长的环境，从而淘汰一些不需要的微生物。

微生物在固体培养基上生长形成的单个菌落，通常是由一个细胞繁殖而成的集合体。因此可通过挑取单菌落而获得一种纯培养。获取单个菌落的方法可通过稀释涂布平板或平板划线等技术完成。值得指出的是，从微生物群体中经分离生长在平板上的单个菌落并不一定保证是纯培养。因此，纯培养的确定除观察其菌落特征外，还要结合显微镜检测个体形态特征后才能确定，有些微生物的纯培养要经过一系列分离与纯化过程和多种特征鉴定才能得到。

土壤是微生物生活的大本营，它所含微生物无论是数量还是种类都是极其丰富的。因此土壤中的微生物呈多样性，其是发掘微生物资源的重要基地，可以从中分离、纯化得到许多有价值的菌株。本实验将采用不同的培养基从土壤中分离不同类型的微生物。

三、实验材料与仪器

1. 培养基

淀粉琼脂培养基（高氏Ⅰ号培养基），牛肉膏蛋白胨琼脂培养基，马丁氏琼脂培养基，查氏琼脂培养基。

2. 溶液或试剂

10%酚液，盛 9mL 无菌水的试管，盛 90mL 无菌水并带有玻璃珠的锥形瓶。

3. 仪器或其他用具

无菌玻璃涂棒，无菌吸管，接种环，无菌培养皿，链霉素和土样，显微镜，血细胞计数板，涂布器等。

四、实验流程

倒平板→制备梯度稀释液→涂布（或划线法）→培养→挑单菌落→保存。

五、实验步骤

1. 稀释涂布平板法

（1）倒平板　将牛肉膏蛋白胨琼脂培养基、高氏Ⅰ号琼脂培养基、马丁氏琼脂培养基加热融化待冷至 55～60℃时，高氏Ⅰ号琼脂培养基中加入 10%酚液数滴，马丁氏培养基中加入链霉素溶液（终浓度为 30μg/mL），混合均匀后分别倒平板，每种培养基倒三皿。

倒平板的方法为：右手持盛培养基的试管或锥形瓶置火焰旁边，用左手将试管塞或瓶塞轻轻地拔出，试管或瓶口保持对着火焰；然后左手拿培养皿并将皿盖在火焰附近打开一缝，迅速倒入培养基约 15mL，加盖后轻轻摇动培养皿，使培养基均匀分布在培养皿底部，然后平置于桌面上，待凝后即为平板。

（2）制备土壤稀释液　称取土样 10g，放入盛 90mL 无菌水并带有玻璃珠的锥形瓶中，振摇约 20min，使土样与水充分混合，将细胞分散。用一支 1mL 无菌吸管从中吸取 1mL 土壤悬液加入盛有 9mL 无菌水的大试管中充分混匀，然后用无菌吸管从此试管中吸取 1mL 加入另一盛有 9mL 无菌水的试管中，混合均匀，以此类推制成 10^{-1}、10^{-2}、10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6}不同稀释度的土壤溶液，注意：操作时管尖不能接触液面，每一个稀释度换一支试管。

（3）涂布　将上述每种培养基的三个平板底面分别用记号笔写上 10^{-4}、10^{-5}和 10^{-6}三种

稀释度，然后用无菌吸管分别由 10^{-4}、10^{-5} 和 10^{-6} 三管土壤稀释液中各吸取 0.1mL 或 0.2mL，小心地滴在对应平板培养基表面中央位置。

从土壤中分离微生物的操作过程为：右手拿无菌涂棒平放在平板培养基表面，将菌悬液先沿同心圆方向轻轻地向外扩展，使之分布均匀。室温下静置 5～10min，使菌液浸入培养基。

（4）培养　将高氏Ⅰ号培养基平板和马丁氏培养基平板倒置于 28℃温室中培养 3～5d，牛肉膏蛋白胨平板倒置于 37℃温室中培养 2～3d。

（5）挑菌落　将培养后长出的单个菌落分别挑取少许细胞接种到上述三种培养基斜面上，分别置 28℃和 37℃温室培养。若发现有杂菌，需再一次进行分离、纯化，直到获得纯培养。

2. 平板划线分离法

（1）倒平板　按稀释涂布平板法倒平板，并用记号笔标明培养基名称、土样编号和实验日期。

（2）划线　在近火焰处，左手拿皿底，右手拿接种环，挑取上述 10^{-1} 的土壤悬液一环在平板上划线。划线的方法很多，但无论采用哪种方法，其目的都是通过划线将样品在平板上进行稀释，使之形成单个菌落。

用接种针以无菌操作挑取土壤悬液一环，先在平板培养基的一边作第一次平行划线 3～4 条，再转动培养皿约 70°角，并将接种针上剩余物烧掉，待冷却后通过第一次划线部分作第二次平行划线，再用同样的方法通过第二次划线部分作第三次划线和通过第三次平行划线部分作第四次平行划线。划线完毕后，盖上培养皿盖，倒置于温室培养。

（3）挑菌落　同稀释涂布平板法，一直到分离的微生物认为纯化为止。

六、实验结果

所做涂布平板法和划线法是否较好地得到了单菌落？如果不是，请分析其原因并重做。在三种不同的平板上你分离得到了哪些类群的微生物？简述它们的菌落特征。

七、思考题

1. 如何确定平板上某单个菌落是否为纯培养？请写出实验的主要步骤。

2. 为什么高氏Ⅰ号培养基和马丁氏培养基中要分别加入酚和链霉素？如果用牛肉膏蛋白胨培养基分离一种对青霉素具有抗性的细菌，你认为应如何做？

实验八　微生物的接种技术实验

一、实验目的

1. 学习并掌握微生物的几种接种技术。

2. 建立无菌操作的概念，掌握无菌操作的基本环节。

二、实验原理

将微生物的培养物或含有微生物的样品移植到培养基上的操作技术称之为接种。接种是微生物实验及科学研究中的一项最基本的操作技术。无论微生物的分离、培养、纯化或鉴定以及有关微生物的形态观察及生理研究都必须进行接种。接种的关键是要严格地进行无菌操作，如操作不慎引起污染，则实验结果不可靠，影响下一步工作的进行。

三、实验材料与仪器

1. 器械和用品

酒精灯，玻璃铅笔，火柴，试管架，接种环，接种针，接种钩，滴管，移液管，三角形接种棒等接种工具。

2. 菌种和培养基

菌种：大肠杆菌（*Escherichia coli*），金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）。培养基：普通琼脂斜面和平板，营养肉汤，普通琼脂高层（直立柱）。

四、实验流程

斜面接种法→液体接种法→固体接种法→穿刺接种法。

五、实验步骤

1. 斜面接种法

斜面接种法主要用于接种纯菌，使其增殖后用以鉴定或保存菌种。

通常先从平板培养基上挑取分离的单个菌落，或挑取斜面、肉汤中的纯培养物接种到斜面培养基上。操作应在无菌室、接种柜或超净工作台上进行，先点燃酒精灯。

将菌种斜面培养基（简称菌种管）与待接种的新鲜斜面培养基（简称接种管）持在左手拇指、食指、中指及无名指之间，菌种管在前，接种管在后，斜面向上管口对齐，应斜持试管呈45°～60°角，并能清楚地看到两个试管的斜面，注意不要持成水平，以免管底凝集水浸湿培养基表面。以右手在火焰旁转动两管棉塞，使其松动，以便接种时易于取出。

右手持接种环柄，将接种环垂直放在火焰上灼烧。镍铬丝部分（环和丝）必须烧红，以达到灭菌目的，然后将除手柄部分的金属杆用火焰灼烧一遍，尤其是接镍铬丝的螺口部分，要彻底灼烧以免灭菌不彻底。用右手的小指和手掌之间及无名指和小指之间拔出试管棉塞，将试管口在火焰上通过，以杀灭可能沾污的微生物。棉塞应始终夹在手中，如掉落应更换无菌棉塞。

将灼烧灭菌的接种环插入菌种管内，先接触无菌苔生长的培养基，待冷却后再从斜面上刮取少许菌苔取出，接种环不能通过火焰，应在火焰旁迅速插入接种管。在试管中由下往上做S形划线。接种完毕，接种环应通过火焰抽出管口，并迅速塞上棉塞。再重新仔细灼烧接种环后，放回原处，并塞紧棉塞。将接种管贴好标签或用玻璃铅笔划好标记后再放入试管架，即可进行培养。

2. 液体接种法

多用于增菌液进行增菌培养，也可用纯培养菌接种液体培养基进行生化试验，其操作方法与注意事项与斜面接种法基本相同，仅将不同点介绍如下。

由斜面培养物接种至液体培养基：用接种环从斜面上沾取少许菌苔，接至液体培养基时应在管内靠近液面试管壁上将菌苔轻轻研磨并轻轻振荡，或将接种环在液体内振摇几次即可。如接种霉菌菌种时，若用接种环不易挑起培养物时，可用接种钩或接种铲进行。

由液体培养物接种液体培养基时，可用接种环或接种针沾取少许液体移至新液体培养基即可。也可根据需要用吸管、滴管或注射器吸取培养液移至新液体培养基即可。

接种液体培养物时应特别注意勿使菌液溅在工作台上或其他器皿上，以免造成污染。如有溅污，可用酒精棉球灼烧灭菌后，再用消毒液擦净。凡吸过菌液的吸管或滴管，应立即放入盛有消毒液的容器内。

3. 固体接种法

普通斜面和平板接种均属于固体接种，斜面接种法中已介绍，不再赘述。固体接种的另一种形式是接种固体曲料，进行固体发酵。按所用菌种或种子菌来源不同可分为如下两种。

（1）用菌液接种固体料　包括用菌苔刮洗制成的菌悬液和直接培养的种子发酵液。接种时按无菌操作将菌液直接倒入固体料中，搅拌均匀。但要注意接种所用水容量要计算在固体料总加水量之内，否则会使接种后含水量加大，影响培养效果。

(2) 用固体种子接种固体料　包括用孢子粉、菌丝孢子混合种子菌或其他固体培养的种子菌。将种子菌于无菌条件下直接倒入无菌的固体料中即可，但必须充分搅拌使之混合均匀。一般是先把种子菌和少部分固体料混匀后再拌大堆料。

4. 穿刺接种法

此法多用于半固体、醋酸铅、三糖铁琼脂与明胶培养基的接种，操作方法与注意事项与斜面接种法基本相同。但必须使用笔直的接种针，而不能使用接种环。

接种柱状高层或半高层斜面培养管时，应向培养基中心穿刺，一直插到接近管底，再沿原路抽出接种针。注意勿使接种针在培养基内左右移动，以使穿刺线整齐，便于观察生长结果。

六、实验结果

分别记录并描绘平板划线、斜面和半固体接种的微生物生长情况和培养特征。

七、思考题

1. 试述如何在接种中，贯彻无菌操作的原则。
2. 以斜面上的菌种接种到新的斜面培养基为例说明操作方法和注意事项。
3. 试设计一个实验，以从土壤中分离酵母菌并进行计数。

实验九　细菌的生理生化实验

一、实验目的

1. 了解细菌鉴定中常用的生理生化试验反应原理。
2. 掌握测定细菌生理生化反应的技术和方法。

二、实验原理

各种微生物在代谢类型上表现出很大的差异。由于细菌特有的单细胞原核生物的特性，这种差异就表现得更加明显。不同细菌分解、利用糖类、脂肪类和蛋白类物质的能力不同，所以其发酵的类型和产物也不相同，也就是说，不同微生物具有不同的酶系统。即使在分子生物学技术和手段不断发展的今天，细菌的生理生化反应在菌株的分类鉴定中仍有很大作用。

三、实验材料与仪器

1. 菌种

大肠杆菌（*Escherichia coli*），产气肠杆菌（*Enterobacter aerogenes*），普通变形杆菌（*Proteus vulgaris*），枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）的斜面菌种。

2. 培养基

葡萄糖蛋白胨水培养基，蛋白胨水培养基、糖（葡萄糖、乳糖或蔗糖）发酵培养基。

3. 试剂

40%NaOH 溶液，肌酸，甲基红试剂，吲哚试剂，乙醚，1.6%溴甲基酚紫指示剂。

4. 器具

超净工作台，恒温培养箱，高压灭菌锅，试管，移液管，杜氏小套管。

四、实验流程

糖发酵试验→V-P 试验→甲基红试验→吲哚试验。

五、实验步骤

1. 糖类发酵试验

（1）实验目的　了解不同细菌分解利用糖的能力及实验原理，并掌握其操作方法。

（2）实验原理　可根据细菌分解利用糖能力的差异表现出是否产酸产气作为鉴定菌种的依据。是否产酸，可在糖发酵培养基中加入指示剂溴甲酚紫（即 B. C. P 指示剂，其 pH 在 5.2 以下呈黄色，pH 在 6.8 以上呈紫色），经培养后根据指示剂的颜色变化来判断。是否产气，可在发酵培养基中放入倒置杜氏小管观察。

（3）实验材料与仪器

① 菌种。大肠杆菌（*Escherichia coli*）、产气肠杆菌（*Enterobacter aerogenes*）、普通变形杆菌（*Proteus vulgaris*）的斜面菌种。

② 培养基。葡萄糖、蔗糖和乳糖发酵培养液试管。

（4）实验流程　发酵液试管→标记→接种→培养→观察→记录。

（5）实验步骤

① 试管标记。取分别装有葡萄糖、蔗糖和乳糖发酵培养液试管各 4 支，每种糖发酵试管中均分别标记大肠杆菌、产气肠杆菌、普通变形杆菌和空白对照。

② 接种培养。以无菌操作分别接种少量菌苔至以上各相应试管中，每种糖发酵培养液的空白对照均不接菌。将装有培养液的杜氏小管倒置放入试管中，置 37℃恒温箱中培养，分别在培养 24h、48h 和 72h 时观察结果。

③ 观察记录。与对照管比较，若接种培养液保持原有颜色，其反应结果为阴性，表明该菌不能利用该种糖，记录用“－”表示；如培养液呈黄色，反应结果为阳性，表明该菌能分解该种糖产酸，记录用“＋”表示。培养液中的杜氏小管内有气泡为阳性反应，表明该菌分解糖能产酸并产气，记录用“＋”表示；如杜氏小管内没有气泡为阴性反应，记录用“－”表示。

2. 乙酰甲基甲醇试验（V-P 试验）

（1）实验目的　了解鉴别不同肠杆菌科各菌属的乙酰甲基甲醇试验原理，并掌握其操作方法。

（2）实验原理　某些细菌在葡萄糖蛋白胨水培养液中能分解葡萄糖产生丙酮酸，丙酮酸缩合、脱羧成乙酰甲基甲醇，后者在强碱环境下，被空气中氧氧化为二乙酰，二乙酰与蛋白胨中的胍基生成红色化合物，称 V-P（＋）反应。

（3）实验材料与仪器

① 菌种。大肠杆菌（*Escherichia coli*）、产气肠杆菌（*Enterobacter aerogenes*）、普通变形杆菌（*Proteus vulgaris*）、枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）的斜面菌种。

② 培养基。葡萄糖蛋白胨培养液的试管。

（4）实验流程　培养液试管→标记→接种→培养→观察→记录。

（5）实验步骤

① 标记试管。取 5 支装有葡萄糖蛋白胨培养液的试管，分别标记大肠杆菌、产气肠杆菌、普通变形杆菌、枯草芽孢杆菌和空白对照。

② 接种培养。以无菌操作分别接种少量菌苔至以上相应试管中，空白对照管不接菌，置 37℃恒温箱中，培养 24～48h。

③ 观察记录。取出以上试管，振荡 2min。另取 5 支空试管相应标记菌名，分别加入3～5mL 以上对应管中的培养液，再加入 40%NaOH 溶液 10～20 滴，并用牙签挑入约0.5～1mg 微量肌酸，振荡试管，以使空气中的氧溶入，置 37℃恒温箱中保温 15～30min 后，若培养液

呈红色，记录为 V-P 试验阳性反应（用“＋”表示）；若不呈红色，记录为 V-P 试验阴性反应（用“－”表示）。

注意：原试管中留下的培养液用作甲基红试验。

3. 甲基红试验（M. R. 试验）

（1）实验目的　了解鉴别肠杆菌科各菌属的甲基红试验原理，并掌握其操作方法。

（2）实验原理　肠杆菌科各菌属都能发酵葡萄糖，在分解葡萄糖过程中产生丙酮酸，进一步分解中，由于糖代谢的途径不同，可产生乳酸、琥珀酸、醋酸和甲酸等大量酸性产物，可使培养基 pH 值下降至 4.5 以下，从而使甲基红指示剂变红。

（3）实验材料与仪器

① 菌种。同 V-P 试验。

② 培养基。同 V-P 试验。

（4）实验流程　培养液→指示剂→观察→记录结果。

（5）实验步骤　于 V-P 试验留下的培养液中，各加入 2～3 滴甲基红指示剂，注意沿管壁加入，仔细观察培养液上层，若培养液上层变成红色，即为阳性反应；若仍呈黄色，则为阴性反应，分别用“＋”或“－”表示。

4. 吲哚试验

（1）实验目的　掌握吲哚试验（Ehrlich 法）的原理和方法。

（2）实验原理　有些细菌含有色氨酸酶，能分解蛋白胨中的色氨酸生成吲哚（靛基质）。吲哚本身没有颜色，不能直接看见，但当加入对二甲基氨基苯甲醛试剂时，该试剂与吲哚作用，形成红色的玫瑰吲哚。

（3）实验材料与仪器

① 菌种。测试菌株。

② 培养基。蛋白胨水培养基。

③ 试剂。二甲基氨基苯甲醛溶液、乙醚。

（4）实验流程　标记试管→接种→培养→观察→记录。

（5）实验步骤

① 试管标记。取装有蛋白胨水培养液的试管 5 支，分别标记大肠杆菌、产气肠杆菌、普通变形杆菌、枯草芽孢杆菌和空白对照。

② 接种培养。以无菌操作分别接种少量菌苔到以上相应试管中，第 5 管作空白对照不接种，置 37℃恒温箱中培养 24～48h。

③ 观察记录。在培养液中加入乙醚 1～2mL，经充分振荡使吲哚萃取至乙醚中，静置片刻后乙醚层浮于培养液的上面，此时沿管壁缓慢加入 5～10 滴吲哚试剂（加入吲哚试剂后切勿摇动试管，以防破坏乙醚层影响结果观察），如有吲哚存在，乙醚层呈现玫瑰红色，此为吲哚试验阳性反应，否则为阴性反应，阳性用“＋”、阴性用“－”表示。

六、实验结果

列表统计，并记录生理生化反应测定结果。

七、思考题

1. 以上生理生化反应能用于鉴别细菌，其原理是什么？
2. 细菌生理生化反应试验中为什么要设对照？
3. 试设计一试验方案，以鉴别一株肠道细菌。

实验十　食品中细菌总数的测定

一、实验目的

1. 学习并掌握细菌的分离和活菌计数的基本方法和原理。
2. 了解菌落总数测定在对被检样品进行卫生学评价中的意义。

二、实验原理

菌落总数是指食品经过处理，在一定条件下培养后，所得 1g 或 1mL 检样中所含细菌菌落总数。菌落总数主要作为判别食品被污染程度的标志，也可以应用这一方法观察细菌在食品中繁殖的动态，以便对被检样品进行卫生学评价时提供依据。

菌落总数并不表示样品中实际存在的所有细菌总数，菌落总数并不能区分其中细菌的种类，所以有时被称为杂菌数、需氧菌数等。

三、实验材料与仪器

1. 食品检样
2. 培养基

营养琼脂培养基，无菌生理盐水。

3. 其他

无菌培养皿，无菌移液管，无菌不锈钢勺。

四、实验步骤

1. 取样、稀释和培养

① 以无菌操作取检样 25g（或 mL），放于装有 225mL 灭菌生理盐水的灭菌玻璃瓶内（瓶内预置适量的玻璃珠）或灭菌乳钵内，经充分振摇或研磨制成 1∶10 的均匀稀释液。固体检样在加入稀释液后，最好置灭菌均质器中以 8000～10000r/min 的速度处理 1min，制成 1∶10 的均匀稀释液。

② 用 1mL 灭菌吸管吸取 1∶10 稀释液 1mL，沿管壁徐徐注入含有 9mL 灭菌生理盐水的试管内，振摇试管混合均匀，制成 1∶100 的稀释液。

③ 另取 1mL 灭菌吸管，按上项操作顺序，制 10 倍递增稀释液，如此每递增稀释一次即换用 1 支 10mL 吸管。

④ 根据标准要求或对污染情况的估计，选择 2～3 个适宜稀释度，分别在制作 10 倍递增稀释的同时，以吸取该稀释度的吸管移取 1mL 稀释液于灭菌平皿中，每个稀释度做两个平皿。

⑤ 稀释液移入平皿后，将凉至 46℃的营养琼脂培养基注入平皿约 15mL，并转动平皿，混合均匀。同时将营养琼脂培养基倾入加有 1mL 稀释液（不含样品）的灭菌平皿内作空白对照。

⑥ 待琼脂凝固后，翻转平板，置（36±1)℃温箱内培养（48±2)h，取出计算平板内菌落数目，乘以稀释倍数，即得每克（每毫升）样品所含菌落总数。

2. 菌落计数方法

作平皿菌落计数时，可用肉眼观察，必要时用放大镜检查，以免遗漏。在记下各平皿的菌落总数后，求出同稀释度的各平皿平均菌落数。到达规定培养时间，应立即计数。如果不能立即计数，应将平板放置于 0～4℃，但不要超过 24h。

3. 菌落计数报告方法

（1）平皿菌落数的选择　选取菌落数在30～300之间的平皿作为菌落总数测定标准。每一个稀释度应采用两个平皿平均数，其中一个平皿有较大片状菌落生长时，则不宜采用，而应以无片状菌落生长的平皿作为该稀释度的菌落数，若片状菌落不到平皿的一半，而其余一半中菌落分布又很均匀，则可以计算半个平皿后乘以2以代表全皿菌落数。

（2）稀释度的选择

① 应选取平均菌落数在30～300之间的稀释度，报告方式如表7-5所示。

表7-5　稀释度选择及菌落数报告方式

例　次	稀释液及菌落数			两稀释液之比	菌落总数/(个/g或个/mL)	报告方式/(个/g或个/mL)
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}			
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						

② 若有两个稀释度均在30～300之间时，应以二者比值决定，比值≤2取平均数，比值＞2则取其较小数字。

③ 若所有稀释度均大于300，则取最高稀释度的平均菌落数乘以稀释倍数报告。

④ 若所有稀释度均小于30，则以最低稀释度的平均菌落数乘以稀释倍数报告。

⑤ 若所有稀释度均无菌落生长，则应按小于1乘以最低稀释倍数报告。

⑥ 若所有稀释度均不在30～300之间，有的大于300，有的又小于30，则应以最接近300或30的平均菌落数乘以稀释倍数报告。

（3）计数报告　菌落数在1～100时，按实有数字报告，如大于100时，则报告前面两位有效数字，第三位数按四舍五入计算，为了缩短数字后面的零数，也可以10的指数表示。

五、实验结果

1. 将实验测出的样品数据以报表方式报告结果。
2. 对样品菌落总数作出是否符合卫生要求的结论。

六、思考题

1. 食品检验为什么要测定细菌菌落总数？
2. 实验操作如何使数据可靠？
3. 食品中检出的菌落总数是否代表该食品上的所有细菌数？为什么？
4. 为什么营养琼脂培养基在使用前要保持在（46±1）℃的温度？

实验十一　乳酸菌在发酵饮品中的应用实验

一、实验目的和内容

1. 实验目的

学习乳酸发酵和制作乳酸菌饮料的方法，了解乳酸菌的生长特性。

2. 实验内容

① 从新鲜酸乳中进行乳酸菌的分离纯化。

② 乳酸发酵及检测。

③ 乳酸菌饮料制作。

④ 自制乳酸质量品尝。

二、实验材料与仪器

(1) 菌种　嗜热乳酸链球菌（*Streptococcus thermophilus*）、保加利亚乳酸杆菌（*Lactobacillus bulgaricus*），乳酸菌种也可以从市场销售的各种新鲜酸乳或酸乳饮料中分离。

(2) 培养基　BCG 牛乳培养基，乳酸菌培养基，脱脂乳试管（见注 1），脱脂乳粉或全脂乳粉，鲜牛奶，蔗糖，碳酸钙。

(3) 其他实验器材　恒温水浴锅，酸度计，高压蒸汽灭菌锅，超净工作台，培养箱，酸乳瓶（200～280mL），培养皿，试管，300mL 锥形瓶。

三、实验步骤

1. 乳酸菌的分离纯化

(1) 分离　取市售新鲜酸乳或泡制酸菜的酸液稀释至 10^{-5}，取其中的 10^{-4}、10^{-5} 2 个稀释度的稀释液各 0.1～0.2mL，分别接入 BCG 牛乳培养基琼脂平板上，用无菌涂布器依次涂布；或者直接用接种环蘸取原液平板划线分离，置 40℃培养 48h，如出现圆形稍扁平的黄色菌落及其周围培养基变为黄色者初步定为乳酸菌。

(2) 鉴别　选取乳酸菌典型菌落转至脱脂乳试管中，40℃培养 8～24h，若牛乳出现凝固，无气泡，呈酸性，涂片镜检细胞杆状或链球状（两种形状的菌种均分别选入），革兰染色呈阳性，则可将其连续传代 4～6 次，最终选择出在 3～6h 能凝固的牛乳管，作菌种待用。

2. 乳酸发酵及检测

(1) 发酵　在无菌操作下将分离的 1 株乳酸菌接种于装有 300mL 乳酸菌培养液的 500mL 锥形瓶中，40～42℃静置培养。

(2) 检测　为了便于测定乳酸发酵情况，实验分 2 组。一组在接种培养后，每 6～8h 取样分析，测定 pH 值。另一组在接种培养 24h 后每瓶加入 $CaCO_3$ 3g（以防止发酵液过酸使菌种死亡），每 6～8h 取样，测定乳酸含量（方法见注 2），记录测定结果。

3. 乳酸菌饮料的制作

(1) 制作培养基质　将脱脂乳和水以 1∶(7～10)（质量之比）的比例，同时加入 5%～6%蔗糖，充分混合，于 80～85℃灭菌 5～10min，然后冷却至 35～40℃，作为制作饮料的培养基质。

(2) 接种培养　将纯种嗜热乳酸链球菌、保加利亚乳酸杆菌及两种菌的等量混合菌液作为发酵剂，均以 2%～5%的接种量分别接入以上培养基质中即为饮料发酵液，亦可以市售鲜酸乳为发酵剂。接种后摇匀，分装到已灭菌的酸乳瓶中，每一种菌的饮料发酵液重复分装 3～5 瓶，随后将瓶盖拧紧密封。

(3) 后熟阶段　将接种后的酸乳瓶置于 40～42℃恒温箱中培养 3～4h。培养时注意观察，在出现凝乳后停止培养。然后转入 4～5℃的低温下冷藏 24h 以上。经此后熟阶段，达到酸乳酸度适中（pH4～4.5），凝块均匀致密，无乳清析出，无气泡，获得较好的口感和特有风味。

(4) 以品尝为标准评定酸乳质量　采用乳酸球菌和乳酸杆菌等量混合发酵的酸乳与单菌株

发酵的酸乳相比较，前者的香味和口感更佳。品尝时若出现异味，表明酸乳污染了杂菌。比较项目按表 7-6 进行。

四、实验结果

1. 乳酸菌鉴定结果，见表 7-6。

表 7-6　乳酸菌检测结果

乳酸菌种类	定性检测结果	定量检测结果	
		pH 值	乳酸含量

2. 酸乳品评结果，见表 7-7。

表 7-7　乳酸菌单菌和混合菌发酵的酸乳品评结果

乳酸菌种类	品评项目				结论
	凝乳情况	口　感	香　味	异　味	
球菌					
杆菌					
混合菌(1∶1)					

五、注意事项

1. 采用 BCG 牛乳培养基琼脂平板筛选乳酸菌时，注意挑取典型特征的黄色菌落，结合镜检观察，有利于高效分离筛选乳酸菌。

2. 制作乳酸菌饮料，应选用优良的乳酸菌，采用乳酸球菌与乳酸杆菌等量混合发酵，使其具有独特风味和良好口感。

3. 牛乳的消毒应掌握适宜温度和时间，防止长时间采用过高温度消毒而破坏酸乳风味。

4. 作为卫生合格标准还应按相关规定进行检测，如大肠菌群检测等。经品尝和检验，合格的酸乳应在 4℃条件下冷藏，可保存 6～7d。

六、思考题

1. 发酵酸乳为什么能引起凝乳？

2. 为什么采用乳酸菌混合发酵的酸乳比单菌发酵的酸乳口感和风味更佳？

3. 试设计一个从市售鲜酸乳中分离纯化乳酸菌的制作乳酸菌饮料的程序。

注：

1. 脱脂乳试管

直接选用脱脂乳液或按脱脂乳粉与 5%蔗糖水为 1∶10 的比例配制，装量以试管的 1/3 为宜，115℃灭菌 15min。

2. 乳酸检测方法

(1) 定性测定　取酸乳上清液 10mL 于试管中，加入 10% H_2SO_4 1mL，再加 2% $KMnO_4$

1mL，此时乳酸转化为乙醛，把事先在含氨的硝酸溶液中浸泡的滤纸条搭在试管口上，微火加热试管至沸，若滤纸变黑，则说明有乳酸存在，这是因为加热使乙醛挥发的结果。

(2) 定量测定

① 测定方法。取稀释10倍的酸乳上清液0.2mL，加至3mL pH9.0的缓冲液中，再加入0.2mL NAD溶液，混匀后测定OD_{340nm}值为A_1，然后加入0.02mL L (+)-LDH、0.02mL D (—)-LDH，25℃保温1h后测定OD_{340nm}值为A_2。同时用蒸馏水代替酸乳上清液作对照，测定步骤及条件完全相同，测出的相应值为B_1和B_2。

② 计算公式

$$乳酸(g/100mL)=(VM\Delta\varepsilon D)\times\varepsilon\times l\times V_s/1000$$

式中，V代表比色液最终体积，3.44mL；M代表乳酸的摩尔质量，90g/mol；$\Delta\varepsilon$代表$(A_2-A_1)-(B_2-B_1)$；D代表稀释倍数，10；ε代表NADH在340nm处的吸光系数，$6.3\times10^3 l/(mol\cdot cm)$；$l$代表比色皿的厚度，0.1cm；$V_s$代表取样体积，0.2mL。

(3) 酸乳的检查指标 ①感官指标。酸乳凝块均匀细腻，色泽均匀无气泡，有乳酸特有的悦味。②合格的理化指标。如脂肪≥3%，乳总干物质≥11.5%，蔗糖≥5.00%，酸度70～110°T，Hg<0.01×10^{-6}mg/mL等。③无致病菌，大肠菌群≤40个/100mL。

实验十二 微生物菌种保藏实验

一、实验目的

了解并掌握菌种保藏的常用方法及其优缺点。

二、实验内容

① 学习斜面传代保藏方法。
② 学习液体石蜡保藏方法。
③ 学习砂土管保藏方法。
④ 学习冷冻干燥保藏方法。

三、实验材料与仪器

(1) 菌种 细菌，酵母菌，放线菌和霉菌斜面菌。

(2) 培养基 牛肉膏蛋白胨培养基斜面（培养细菌），麦芽汁培养基斜面（培养酵母菌），高氏Ⅰ号培养基斜面（培养放线菌），马铃薯蔗糖培养基斜面（培养丝状真菌）。

(3) 其他 无菌水，液体石蜡，P_2O_5，脱脂奶粉，10%HCl，干冰，95%乙醇，食盐，河砂，瘦黄土（有机物含量少的黄土）；无菌试管，无菌吸管（1mL及5mL），无菌滴管，接种环，40目及100目筛子，干燥器，安瓿，冰箱，冷冻真空干燥装置，酒精喷灯，锥形瓶(250mL)。

四、实验步骤

1. 斜面传代保藏法

(1) 贴标签 取各种无菌斜面试管数支，将注有菌株名称和接种日期的标签贴在试管斜面的正上方，距试管口2～3cm处。

(2) 斜面接种 将待保藏菌种用接种环以无菌操作法移接至相应的试管斜面上，细菌和酵母菌宜采用对数生长期的细胞，而放线菌和丝状真菌宜采用成熟的孢子。

(3) 培养　细菌37℃恒温培养18～24h，酵母菌于28～30℃培养36～60h，放线菌和丝状真菌置于28℃培养4～7d。

(4) 保藏　斜面长好后，可直接放入4℃冰箱保藏。为防止棉塞受潮长杂菌，管口棉花应用牛皮纸包扎，或换上无菌胶塞，亦可用熔化的固体石蜡熔封棉塞或胶塞。

保藏时间依微生物种类而不同，酵母菌、霉菌、放线菌及有芽孢的细菌可保存2～6个月，移种一次；不产芽孢的细菌最好每月移种一次。此法的缺点是容易变异，污染杂菌的机会较多。

2. 液体石蜡保藏法

(1) 液体石蜡灭菌　在250mL锥形瓶中装入100mL液体石蜡，塞上棉塞，并用牛皮纸包扎，121℃湿热灭菌30min，然后于40℃温箱中放置14d（或置于105～110℃烘箱中1h），以除去石蜡中的水分，备用。

(2) 接种培养　同斜面传代保藏法。

(3) 加液体石蜡　用无菌滴管吸取液体石蜡以无菌操作加到已长好的菌种斜面上，加入量以高出斜面顶端约1cm为宜。

(4) 保藏　棉塞外包牛皮纸，将试管直立放置于4℃冰箱中保存。

利用这种保藏方法，霉菌、放线菌、有芽孢细菌可保藏2年左右，酵母菌可保藏1～2年，一般无芽孢细菌也可保藏1年左右。

3. 砂土管保藏法

(1) 砂土处理

① 砂处理。取河砂经40目筛子过筛，去除大颗粒，加10%HCl浸泡（用量以浸没砂面为宜）2～4h（或煮沸30min），以除去有机杂质，然后倒去盐酸，用清水冲洗至中性，烘干或晒干，备用。

② 土处理。取非耕作层瘦黄土（不含有机质），加自来水浸泡洗涤数次，直至中性，然后烘干，粉碎，用100目筛子过筛，去除粗颗粒后备用。

(2) 装砂土管　将砂与土按2∶1、3∶1或4∶1（质量比）比例混合均匀装入试管中（10mm×100mm），装至约7cm高，加棉塞，并外包牛皮纸，121℃湿热灭菌30min，然后烘干。

(3) 无菌试验　每10支砂土管任抽一支，取少许砂土接入牛肉膏蛋白胨或麦芽汁培养液中，在最适温度下培养2～4d，确定无菌生长时才可使用。若发现有杂菌，经重新灭菌后，再作无菌试验，直到合格。

(4) 制备菌液　用5mL无菌吸管分别吸取3mL无菌水至待保藏的菌种斜面上，用接种环轻轻搅动，制成悬液。

(5) 加样　用1mL吸管吸取上述菌悬液0.1～0.5mL加入砂土管中，用接种环拌匀。加入菌液量以湿润砂土达2/3高度为宜。

(6) 干燥　将含菌的砂土管放入干燥器中，干燥器内用培养皿盛P_2O_5作为干燥剂，可再用真空泵连续抽气3～4h，加速干燥。将砂土管轻拍，砂土呈分散状即达到充分干燥。

(7) 保藏　砂土管可选择下列方法之一保藏。

① 保存于干燥器中；

② 用石蜡封住棉花塞后放入冰箱保存；

③ 将砂土管取出，管口用火焰熔封后放入冰箱保存；

④ 将砂土管装入有$CaCl_2$等干燥剂的大试管中，塞上橡皮塞或木塞，再用蜡封口，放入冰箱中或室温下保存。

4. 冷冻干燥保藏法

(1) 准备安瓿　选用内径 5mm、长 10.5cm 的硬质玻璃试管，用 10%HCl 浸泡 8～10h 后用自来水冲洗多次，最后用去离子水洗 1～2 次，烘干，将印有菌名和接种日期的标签放入安瓿内，有字的一面朝向管壁。管口加棉塞，121℃灭菌 30min。

(2) 制备脱脂牛奶　将脱脂奶粉配成 20%乳液，然后分装，121℃灭菌 30min，并作无菌试验。

(3) 准备菌种　选用无污染的纯菌种，培养时间一般细菌为 24～48h、酵母菌为 3d、放线菌与丝状真菌 7～10d。

(4) 制备菌液及分装　吸取 3mL 无菌牛奶直接加入斜面菌种管中，用接种环轻轻搅动菌落，再用手摇动试管，制成均匀的细胞或孢子悬液。用无菌长滴管将菌液分装于安瓿底部，每管装 0.2mL。

(5) 预冻　将安瓿外的棉花剪去并将棉塞向里推至离管口约 15mm 处，再通过乳胶管把安瓿连接于总管的侧管上，总管则通过厚壁橡皮管及三通短管与真空表及干燥瓶、真空泵相连接，并将所有安瓿浸入装有干冰和 95%乙醇的预冷槽中（此时槽内温度可达－50～－40℃），只需冷冻 1h 左右，即可使悬液冻结成固体。

(6) 真空干燥　完成预冻后，升高总管使安瓿仅底部与冰面接触（此处温度约－10℃），以保持安瓿内的悬液仍呈固体状态。开启真空泵后，应在 5～15min 内使真空度达 66.7Pa 以下，使被冻结的悬液开始升华，当真空度达到 13.3～26.7Pa 时，冻结样品逐渐被干燥成白色片状，此时使安瓿脱离冰浴，在室温下（25～30℃）继续干燥（管内温度不超过 30℃），升温可加速样品中残余水分的蒸发。总干燥时间应根据安瓿的数量、悬浮液装量及保持剂性质而定，一般 3～4h 即可。

(7) 封口样品　干燥后继续抽真空达 1.33Pa 时，在安瓿棉塞的稍下部位用酒精喷灯火焰灼烧，拉成细颈并熔封，然后置 4℃冰箱内保藏。

五、演示

1. 冷冻真空干燥装置的连接及使用。
2. 熔封安瓿操作。

六、实验结果

1. 按表 7-8 所列项目记录菌种保藏方法和结果。

表 7-8　菌种保藏方法和结果记录

接种日期	菌种名称		培养条件		保藏方法	保藏温度	操作要点
	中文名	学　名	培养基	培养温度			

2. 试述各种菌种保藏方法的优缺点。

七、注意事项

1. 从液体石蜡封藏的菌种管中挑菌后，接种环上带有油和菌，故接种环在火焰上灭菌时要先在火焰边烤干再直接灼烧，以免菌液四溅，引起污染。

2. 在真空干燥过程中安瓿内样品应保持冻结状态，以防止抽真空时样品产生泡沫而外溢。

3. 熔封安瓿时注意火焰大小要适中，封口处灼烧要均匀，若火焰过大，封口处易弯斜，冷却后易出现裂缝而造成漏气。

八、思考题

1. 如何防止菌种管棉塞受潮和杂菌污染？
2. 冷冻干燥装置包括哪几个部件？各个部件起什么作用？
3. 现有一个纤维素酶的高产霉菌菌株，你选用什么方法保存？试设计一个实验方案。

第八章　食品安全学实验指导

实验一　食品中大肠菌群的测定

一、实验目的

1. 了解大肠菌群 MPN 测定的原理。
2. 掌握测定食品中大肠菌群 MPN 的基本方法。
3. 掌握大肠菌群 MPN 测定结果的报告方式。
4. 了解常见食品大肠菌群 MPN 的卫生标准。

二、基本原理

大肠菌群是指一群（在 37℃，24h）能分解乳糖产酸产气、需氧和兼性厌氧的革兰阴性无芽孢杆菌。它包括埃希菌属、枸橼酸菌属、肠杆菌属（又叫产气杆菌属，包括阴沟肠杆菌和产气肠杆菌）、克雷伯菌属中的一部分和沙门菌属的第Ⅲ亚属（能发酵乳糖）的细菌。

大肠菌群主要来源于人畜粪便，故以此作为粪便污染指标来评价食品的卫生质量，具有广泛的卫生学意义。它反映了食品是否被粪便污染，同时间接地指出食品是否有肠道致病菌污染的可能性。

食品中大肠菌群数是以每 100mL（或 100g）检样内大肠菌群最可能数（the most probable number，MPN）表示。

三、实验材料与仪器

1. 样品

根据不同需要选择被检样品，如鲜奶、酱油、醋、啤酒等。

2. 试剂

（1）乳糖胆盐发酵管（GB/T 4789.28—2003 中 4.9）

成分：蛋白胨 20g，猪（或牛、羊）胆盐 5g，乳糖 10g，0.04%溴甲酚紫水溶液 25mL，蒸馏水 1000mL，pH7.4。

制法：将蛋白胨、胆盐、乳糖溶于水中，校正 pH，加入指示剂，分装每管 10mL，并放入一个小倒管，115℃高压灭菌 15min。

（2）伊红美蓝琼脂（EMB）平板（GB/T 4789.28—2003 中 4.25）

成分：蛋白胨 10g，乳糖 10g，磷酸氢二钾 2g，琼脂 17g，2%伊红 Y 溶液 20mL，0.65%美蓝溶液 10mL，蒸馏水 1000mL，pH7.1。

制法：将蛋白胨、磷酸盐、琼脂溶于水中，校正 pH，分装于烧瓶内，121℃高压灭菌 15min 备用。临用时加入乳糖（115℃，15min）加热熔化，冷至 50～55℃，加入伊红和美蓝溶液（115℃，15min），摇匀，倾注平板。

（3）乳糖发酵管（GB/T 4789.28—2003 中 4.10）

成分：蛋白胨 20g，乳糖 10g，0.04%溴甲酚紫水溶液 25mL，蒸馏水 1000mL，pH7.4。

制法：将蛋白胨、乳糖溶于水中，校正 pH，加入指示剂，按检验要求分装 3mL，并放入一个小倒管，115℃高压灭菌 15min。

(4) 0.85%灭菌生理盐水

(5) 革兰染色液 (GB/T 4789.28—2003 中 2.2)

① 结晶紫染液。1g 结晶紫溶于 20mL 95%乙醇中，再与 80mL 1%草酸铵溶液混合。

② 革兰碘液。1g 碘与 2g 碘化钾先混合，用少量水充分振摇溶解，加水至 300mL。

③ 沙黄复染液。沙黄 0.25g 溶于 10mL 95%乙醇中，加水 90mL。

3. 器材

冰箱 (0～4℃)，恒温培养箱 (36℃±1℃)，恒温水浴锅 (46℃±1℃)，显微镜 (10×～100×)，均质器或灭菌乳钵，吸管 (1mL，10mL)，锥形瓶 (500mL)，玻璃珠 (5mm)，培养皿 (φ90mm)，试管 (15mm×150mm)，刀，剪子，镊子。

四、食品中大肠菌群 MPN

食品中大肠菌群 MPN 检验按 GB/T 4789.3—2003 操作；检验基本程序如图 8-1 所示。

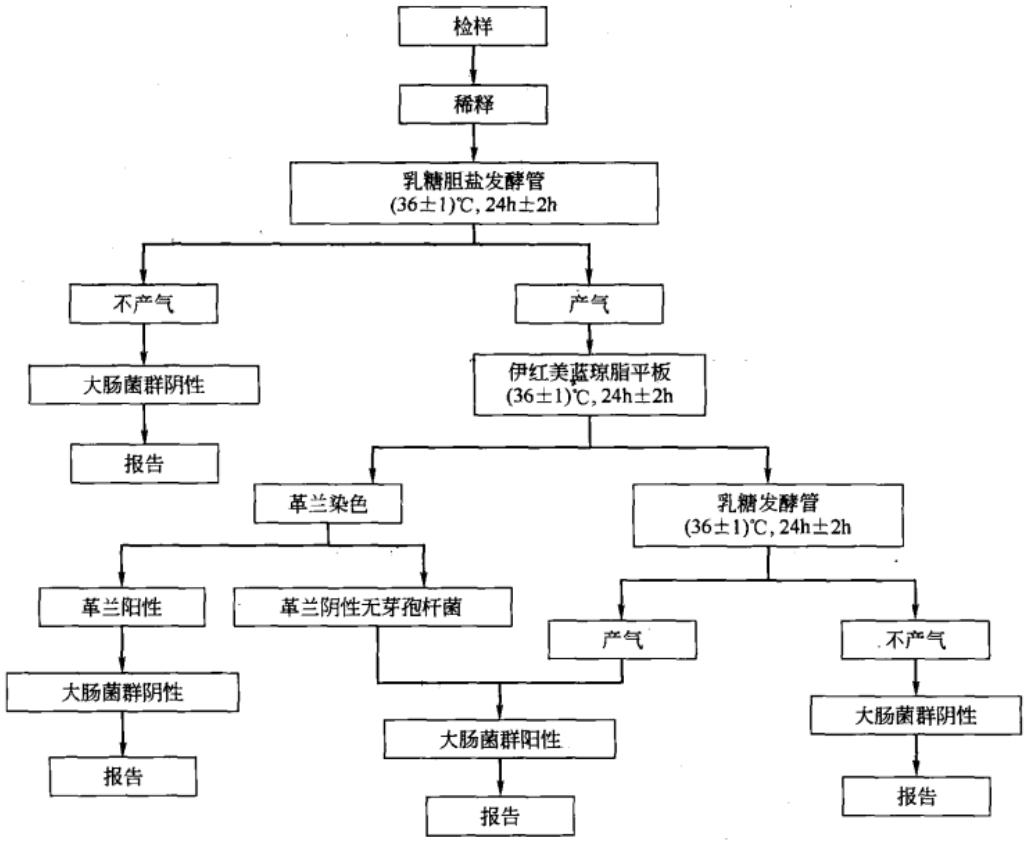


图 8-1 食品中大肠菌群 MPN 检验基本程序

五、实验步骤

1. 检样稀释

取样及稀释方法与菌落总数检验方法相同，做成均匀稀释液。选择 3 个合适的稀释度接种于乳糖胆盐发酵管。

① 以无菌操作取检样 25mL（或 25g），放于装有 225mL 灭菌生理盐水的灭菌玻璃瓶内（瓶内预置适量的玻璃珠）或灭菌乳钵内，经充分振摇或研磨制成 1∶10 的均匀稀释液。固体检样在加入稀释液后，最好置灭菌均质器中以 8000～10000r/min 的速度处理 1min，制成 1∶10 的均匀稀释液。

② 用 1mL 灭菌吸管吸取 1∶10 稀释液 1mL，沿管壁徐徐注入含有 9mL 灭菌生理盐水的试管内，振摇试管混合均匀，制成 1∶100 的稀释液。

③ 另取 1mL 灭菌吸管，按上项操作顺序，做 10 倍递增稀释液，如此每递增稀释 1 次即换用 1 支 1mL 吸管。

2. 乳糖发酵实验

根据食品卫生标准要求，或对检样污染程度的估计，选择 3 个连续稀释度，每个稀释度准备接种三管乳糖胆盐发酵管。接种量在 1mL 以上者用双料乳糖胆盐发酵管；1mL 及以下者用单料乳糖胆盐发酵管。每一稀释度接种 3 管。置（36±1）℃恒温箱内，培养（24±2）h，如所有发酵管都不产气，则可报告为大肠菌群阴性，如有产气者，按下列程序继续进行。

3. 分离培养

将产气的发酵管分别转种在伊红美蓝琼脂平板上划线分离，然后置（36±1）℃恒温箱内，培养 18～24h 后取出，观察菌落形态，并做革兰染色和证实试验。

4. 证实实验

在上述平板上，挑取可疑大肠菌落 1～2 个进行革兰染色。镜检为革兰阴性无芽孢杆菌时，挑取该菌落的另一部分，接种乳糖复发酵管，置（36±1）℃恒温箱内，培养（24±2）h，观察产气情况。凡乳糖管产酸产气，证实有大肠菌群存在，即可报告为大肠菌群阳性。

大肠菌群可疑菌落的特点是：①深紫黑色，具有金属光泽的菌落；②紫黑色，不带或略带金属光泽的菌落；③淡紫黑色，中心色较深的菌落。

六、实验结果

1. 详细记录实验现象。

2. 报告根据证实大肠菌群的阳性管数，查 MPN 检索表，见表 8-1，报告 100g（或 100mL）样品大肠菌群的最可能数，即 MPN 值。

表 8-1 大肠菌群的最可能数（MPN）检索表

阳性管数			MPN [100mL(g)]	95%可信区间	
1mL(g)×3	0.1mL(g)×3	0.01mL(g)×3		下限	上限
0	0	0	<30	<5	90
0	0	1	30		
0	0	2	60		
0	0	3	90		
0	1	0	30	<5	90
0	1	1	60		
0	1	2	90		
0	1	3	120		
0	2	0	60		
0	2	1	90		
0	2	2	120		
0	2	3	160		
0	3	0	90		
0	3	1	120		
0	3	2	160		
0	3	3	190		

续表

阳性管数			MPN [100mL(g)]	95%可信区间	
1mL(g)×3	0.1mL(g)×3	0.01mL(g)×3		下限	上限
1	0	0	40	<5	200
1	0	1	70	10	210
1	0	2	110		
1	0	3	150		
1	1	0	70		
1	1	1	110	10	230
1	1	2	150	30	360
1	1	3	190		
1	2	0	110	30	360
1	2	1	150		
1	2	2	200		
1	2	3	240		
1	3	0	160		
1	3	1	200		
1	3	2	240		
1	3	3	290		
2	0	0	90	10	360
2	0	1	140	30	370
2	0	2	200		
2	0	3	260		
2	1	0	150	30	440
2	1	1	200	70	890
2	1	2	270		
2	1	3	340		
2	2	0	210	40	470
2	2	1	280	100	1500
2	2	2	350		
2	2	3	420		
2	3	0	290		
2	3	1	360		
2	3	2	440		
2	3	3	530		
3	0	0	230	40	1200
3	0	1	390	70	1300
3	0	2	640	150	3800
3	0	3	950		
3	1	0	430	70	2100
3	1	1	750	140	2300
3	1	2	1200	300	3800
3	1	3	1600		
3	2	0	930	150	3800
3	2	1	1500	300	4400
3	2	2	2100	350	4700
3	2	3	2900		
3	3	0	2400	360	1300
3	3	1	4600	170	24000
3	3	2	11000	1500	48000
3	3	3	24000		

注：1. 本表采用3个稀释度（1、0.1、0.01），每稀释度3管；

2. 表内所列检样量如改用10、1、0.1时，表内数字相应降低10倍；如改用0.1、0.01、0.001时，则表内数字相应增加10倍。其余类推。

七、注意事项

1. 程序

大肠菌群的国标检验法采用三步法（乳糖发酵、分离培养和证实实验）。第一步乳糖发酵试验是样品的发酵结果，不是纯菌的发酵试验，所以初发酵阳性管，经过后两步，有可能成为阴性。大量检验数据证明，食品中大肠菌群检验程序的符合率、初发酵与证实实验相差很大，不同食品三步法的符合情况也不一致。一般来说，如果平皿上有较多典型大肠菌群菌落，革兰染色为阴性杆菌，即可做出判定。如果平皿上典型菌落甚少或均不够典型，则应多挑菌落做证实试验，以免出现假阴性。只做一步初发酵，对某些食品来说误差是比较大的。这样做，会有相当部分的合格样品被作为不合格样品处理，应予注意。

2. 挑取菌落

大肠菌群是一群肠道杆菌的总称，大肠菌群菌落的色泽、形态等复杂多样，而且与大肠菌群的检出率密切相关。在实际工作中，为了提高大肠菌群的检出率，应当熟悉其菌落的形态和色泽。在检验方法中通常选用伊红美蓝平板作为分离培养基，在该平板上，大肠菌群菌落大多呈紫黑色，有金属光泽或无金属光泽。菌落形态的其他方面（如菌落的大小、光滑与粗糙、边缘完整情况、隆起情况、湿润与干燥等）虽也应注意，但不如色泽方面更为重要。

挑取菌落数与大肠菌群的检出率也有密切的关系。在实际工作中由于工作量较大，通常只挑取一个菌落，但影响大肠菌群检出率的因素很多，如食品种类、菌落色泽和形态、细菌种类等，只挑取一个菌落，由于概率问题，很难避免假阴性的出现，尤其当菌落不典型时。所以，挑取菌落一定要挑取典型菌落，如无典型菌落则应多挑取几个，以免出现假阴性。

3. 产气量

在糖发酵试验中经常可以看到，在发酵套管内存在极微小的气泡（有时比小米粒还小），类似这种情况能否算作产气阳性，这是许多人经常遇到的问题。大肠菌群的产气量，多则可以使发酵套管充满气体，少则产生比小米粒还小的气泡。一般来说，产气量与大肠菌群检出率呈正相关，但随样品种类而有不同，有米粒大小气泡也有阳性检出。另外，对未产气的乳糖发酵管是否均应做阴性处理，根据大量实践工作经验来看，对这种情况应慎重考虑，有时会遇到在初发酵时产酸无气，但复发酵却证实为大肠菌群阳性。有时套管内虽无气体，但在液面及管壁可以看到缓缓上升的小气泡。所以对未产气的发酵管有疑问时，可以用手轻轻敲动或摇动试管，如有气泡沿管壁上浮，即应考虑有气体产生，做进一步试验观察。这种情况的阳性检出率可达半数以上。

4. MPN 检索表

最可能数（MPN）是表示样品中活菌密度的估测。MPN 检索表是采用三个稀释度 9 管法，稀释度的选择是基于对样品中菌数的估测，较理想的结果应是最低稀释度 3 管为阳性，而最高稀释度 3 管为阴性。如果无法估测样品中的菌数，则应做一定范围的稀释度。表 8-1 MPN 检索表中列出了 95%可信度，供参考。

在查阅 MPN 检索表时，应注意在 MPN 检索表第一栏阳性管数下面列出的 mL（g）是指原样品（包括液体和固体）的量，并非稀释后的量，对固体样品更应注意。如固体样品 1g 经 10 倍稀释后，虽加入 1mL 量，但实际其中只含有 0.1g 样品，故应按 0.1g 计。

八、思考题

1. 大肠菌群的定义是什么？
2. 为什么选择大肠菌群作为食品被粪便污染的指标菌？
3. 大肠菌群检验中为什么先用乳糖胆盐发酵管发酵？
4. 大肠菌群检验中复发酵试验为什么使用乳糖发酵管但不需加胆盐？

附录 8-1　部分食品菌落总数和大肠菌群 MPN 的卫生标准

附表 8-1　鲜、冻畜禽肉产品（GB 18406.3—2001、GB 16869—2005）

项　目	菌落总数指标/(cfu/g)	大肠菌群指标/(MPN/100g)
鲜畜禽肉产品	≤1000000	≤10000
冻畜禽肉产品	≤500000	≤5000

附表 8-2　熟肉制品（GB 2726—2005）

项　目	菌落总数指标/(cfu/g)	大肠菌群指标/(MPN/100g)
酱卤肉	≤80000	≤150
烧烤肉	≤50000	≤90
肴肉	≤50000	≤150
肉灌肠	≤50000	≤30
熏煮火腿、其他熟肉制品	≤30000	≤90
肉松、油酥肉松、肉松粉	≤30000	≤40
肉干、肉脯、肉糜脯、其他熟肉干制品	≤10000	≤30

附表 8-3　蛋制品（GB 2749—2003）

项　目	菌落总数指标/(cfu/g)	大肠菌群指标/(MPN/100g)
巴氏杀菌冰全蛋	≤5000	≤1000
冰蛋黄、冰蛋白	≤1000000	≤1000000
巴氏杀菌全蛋粉	≤10000	≤90
蛋黄粉	≤50000	≤40
糟蛋	≤100	≤30
皮蛋	≤500	≤30

附表 8-4　鱼糜制品

项　目	国家标准号	菌落总数指标/(cfu/g)		大肠菌群指标/(MPN/100g)	
		即食类	非即食类	即食类	非即食类
鱼糜制品	GB 10132—2005	≤3000	≤50000	≤30	≤450

附表 8-5　其他

项　目	国家标准号	菌落总数指标/[cfu/g(mL)]	大肠菌群指标/[MPN/100g(mL)]
腌制生食动物性水产品	GB 10136—2005	≤5000	≤30
动物性水产干制品	GB 10144—2005	≤30000	≤30
水产调味品	GB 10133—2005	≤8000	≤30
酱油	GB 2717—2003	≤30000	≤30
巴氏杀菌乳	GB 5408.1—1999	≤30000	≤90
灭菌乳	GB 5408.2—1999	商业无菌	—
含乳饮料	GB 11673—2003	≤10000	≤40
生活饮用水	GB 5749—2006	≤100	不得检出

实验二　蒸馏酒和发酵酒的卫生检验实验

一、感官检验

量取 30mL 试样，倒入 50mL 清洁干燥的无色玻璃烧杯中，观察其颜色，应透明，无沉淀

或杂质。

尝其味应有该种酒特有的芳香和滋味，不应有霉味、酸味、异味。

二、乙醇浓度检验

1. 实验目的

掌握利用酒精计测定蒸馏酒和发酵酒中乙醇浓度的简易方法。

2. 实验原理

乙醇（酒精）体积浓度，是指在20℃时酒精水溶液中所含乙醇的体积与在此同一温度下该溶液总体积之百分比。利用酒精计和温度计直接读取酒精计和温度的示值，并在GB/T 5009.48—2003中查“酒精计温度浓度换算表”，换算成温度为20℃时的乙醇浓度（%，体积分数）。

3. 实验材料与仪器

（1）样品　散装蒸馏酒。

（2）器材　酒精计。

4. 实验步骤

① 取100mL试样于250mL或500mL全玻璃蒸馏器中，加50mL水，再加入玻璃珠数粒，蒸馏，用100mL容量瓶收集馏出液100mL。

② 将蒸馏后的试样倒入量筒中，将洗净擦干的酒精计缓缓沉入量筒中，静止后再轻轻按下少许，待其上升静止后，从水平位置观察其与液面相交处的刻度为乙醇浓度，同时测定温度，按测定的温度与浓度，查表（GB/T 5009.48—2003），换算成温度为20℃时的乙醇浓度（%，体积分数）。

三、甲醇浓度检验

1. 实验目的

掌握蒸馏酒和发酵酒中甲醇浓度的测定方法。

2. 实验原理

甲醇在磷酸溶液中，被高锰酸钾氧化成甲醛。过量的高锰酸钾及在反应中生成的二氧化锰，在硫酸环境中被草酸还原。甲醛再与无色品红-亚硫酸作用生成蓝紫色化合物，根据颜色深浅与标准系列比较定量。

3. 实验材料与仪器

（1）试剂

① 高锰酸钾-磷酸溶液。称取高锰酸钾3g，加入15mL（85%）磷酸与70mL水的混合液中，溶解后加水至100mL，贮于棕色瓶中。为防止氧化力下降，保存时间不宜过长。

② 草酸-硫酸溶液。称取无水草酸5g或含2分子结晶水的草酸7g，溶于冷硫酸（硫水：水=1∶1）中至100mL。

③ 品红-亚硫酸溶液。称取磨碎的碱性品红0.1g，分次加入共60mL 80℃的蒸馏水，边加入水边研磨使其溶解，用滴管吸取上层溶液滤于100mL容量瓶中冷却后加10mL亚硫酸钠水溶液（100g/L）、1mL盐酸，再加水至刻度，充分混匀。配制后置冰箱中放置12h以上（或过夜），脱色后方可应用（如此时尚未完全脱色，可加0.25g活性炭，搅拌后放置5min，过滤）。贮于棕色瓶中，置暗处保存，溶液变红则不能再用。

④ 甲醇标准贮备溶液。精密称取甲醇1.000g于100mL容量瓶中，用水稀释至刻度。此溶液1mL含甲醇10.0mg，置冰箱中保存备用。

⑤ 甲醇标准使用液（0.5mg/mL）。准确吸取甲醇标准贮备溶液10.0mL，置100mL容量

瓶中，加水稀释至刻度；再取 25.0mL 于 50mL 容量瓶中，加水至刻度，临用时配制。

⑥ 无甲醇的乙醇溶液。吸取 0.3mL 无水乙醇按③、④操作不应显色。如显色应按以下方法处理。取 300mL 95%乙醇，加高锰酸钾固体少许，蒸馏，收集蒸馏液。在馏出液中加入硝酸银溶液（取 1g 硝酸银溶于少量水中）和氢氧化钠溶液（取 1.5g 氢氧化钠溶于少量水中），摇匀，取上清液蒸馏，弃去初馏液 50mL，收集中间馏出液约 20mL，用酒精计测其浓度，然后加水配制成无甲醇的乙醇溶液（体积分数 60%）。

（2）仪器　分光光度计。

4. 实验步骤

（1）甲醇标准溶液标准曲线绘制

① 吸取 0、0.10mL、0.20mL、0.40mL、0.60mL、0.80mL、1.00mL 甲醇标准使用液（相当于 0、0.05mg、0.10mg、0.20mg、0.30mg、0.40mg、0.50mg 甲醇）分别置于 25mL 具塞比色管中，并加入 0.5mL 无甲醇的乙醇溶液。

② 各管中分别加水至 5mL，再依次各加 2mL 高锰酸钾-磷酸溶液，混匀，放置 10min，各加 2mL 草酸-硫酸溶液，混匀使之褪色，降至室温后再各加 5mL 品红-亚硫酸溶液，混匀，于 20℃以上静置 0.5h（使乙醛、丙醛等显色自行消退），用 2cm 比色杯，以零管调节零点，于波长 590nm 处测吸光度，以吸光度值 A_{590nm} 为纵坐标，以甲醇含量为横坐标，在 Excel 工作表中绘制标准曲线。

（2）试样处理

① 根据试样中乙醇含量适当取样（乙醇体积分数 30%，取 1.00mL；40%，取 0.80mL；50%，取 0.60mL；60%，取 0.50mL），置于 25mL 具塞比色管中。

② 着色或浑浊的蒸馏酒按二、4.①中方法处理后再取样。

5. 实验结果

（1）甲醇标准曲线示意图　以甲醇标准液浓度为横坐标，以吸光度值 A_{590nm} 为纵坐标，绘制标准曲线回归方程及其相关系数 R^2。

（2）试样中甲醇含量计算公式为

$$X=\frac{m}{V\times 1000}\times 100$$

式中，X 代表试样中甲醇的含量，g/100mL；m 代表测定试样中甲醇的质量，mg；V 代表试样体积，mL。

6. 注意事项

① 室温较低时，应先将样品管及标准管浸入 30℃水浴中，再加入高锰酸钾-磷酸溶液等试剂。

② 比色法显色灵敏度与乙醇含量有关。酒精度越高，甲醇呈色灵敏度越低，以 6%乙醇含量（比色管中稀释至 5mL 时含乙醇 0.3mL）时显色较灵敏，因此样品管及标准管中乙醇均应含 6%，不得以蒸馏水代替乙醇配制标准管。

③ 加入显色剂前应使溶液冷至室温，否则还原剂草酸能还原品红-亚硫酸，造成色阶紊乱。

④ 本法灵敏度可达到 0.2g/L，甲醇含量为 0.7g/L 时显色较好，1g/L 以上蓝色较深不适宜比色。另据报道，用 0～1.0mg 标准系列制作标准曲线时，0～0.2mg 段发生直线漂移，故甲醇含量低于 0.2g/L 时，不能使用本法的标准曲线，建议使用比较法定量。

⑤ 甲醛与品红-亚硫酸生成的蓝紫色化合物在 590nm 波长处有最大吸收，可以选用 2cm 比色杯用分光光度法测定。

⑥ 酒样中若含甲醛，可先加入氰化钾与甲醛生成不挥发物，蒸馏后取酒样馏出液测定。

四、杂醇油含量检验

1. 实验目的

掌握蒸馏酒和发酵酒中杂醇油含量的测定方法。

2. 实验原理

杂醇油是指酒中除甲醇、乙醇以外的高级醇类混合物。杂醇油与有机酸结合成酯，使白酒具有独特的香味，但杂醇油进入体内氧化速度较慢，毒性与麻醉作用较乙醇强。饮用含杂醇油高的酒，容易出现头痛及晕醉现象。食品卫生标准规定，酒中杂醇油含量不得超过 2g/L。

杂醇油中的异戊醇和异丁醇与硫酸作用生成戊烯和丁烯，再与对二甲氨基苯甲醛作用生成橙黄色化合物，与标准系列比较定量。

3. 实验材料与仪器

(1) 试剂

① 对二甲氨基苯甲醛-硫酸溶液 (1.5g/L)。称取 0.5g 对二甲氨基苯甲醛，加硫酸溶解至 100mL。临用时配制，贮于棕色瓶中，已变色不能再用。

② 无杂醇油的乙醇。取无水乙醇 0.1mL，按四、4. 操作不应显色。如显色应按以下方法处理。按三、3. (1) ⑥方法收集中间馏出液。按 200mL 中间馏出液，加 0.25g 盐酸间苯二胺，加热回流 2h，用分馏柱控制沸点进行蒸馏，收集中间馏出液 100mL，再按四、4. 操作，不显色方可使用。

③ 杂醇油标准贮备液。精密称取 0.080g 异戊醇和 0.020g 异丁醇于 100mL 容量瓶中，加无杂醇油的乙醇 50mL，再加水稀释至刻度，混匀，低温保存。此液 1mL 相当于含杂醇油 1mg。

④ 杂醇油标准使用液。临用前，吸取杂醇油标准贮备液 5.0mL 于 50mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，混匀。此液 1mL 相当于杂醇油 0.1mg。

(2) 器材　分光光度计，电炉，玻璃比色管。

4. 实验步骤

① 吸取 1.0mL 试样于 10mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，混匀。吸取 0.3mL 于 10mL 比色管中。含糖着色、沉淀、浑浊的蒸馏酒和配制酒应按二、4. ①操作，取其蒸馏液作试样。

② 吸取 0、0.10mL、0.20mL、0.30mL、0.40mL、0.50mL 杂醇油标准使用液（相当于 0、0.010mg、0.020mg、0.030mg、0.040mg、0.050mg 杂醇油），置于 10mL 比色管中。

③ 上述各管准确加水至 1mL，摇匀，放入冷水中冷却。沿管壁缓缓向各管加入 2mL 对二甲氨基苯甲醛-硫酸溶液，使沉入管底，将各管同时摇匀，放入沸水浴中加热 15min，取出立即放入冰浴冷却，迅速加水 2mL，混匀，冷却。10min 后用 1cm 比色杯以零管调节零点，于波长 520nm 处测吸光度，绘制标准曲线比较，或与标准系列目测比较定量。

5. 实验结果

$$\text{试样中杂醇油的含量 } X=\frac{m}{V_2\times(V_1/10)\times1000}\times100$$

式中，X 为试样中杂醇油的含量，g/100mL；m 为测定试样稀释液中杂醇油质量，mg；V_2 为试样体积，mL；V_1 为测定用试样稀释体积，mL。

计算结果保留两位有效数字。

6. 注意事项

① 对二甲氨基苯甲醛-硫酸溶液同丙醇、异丙醇、正丁醇等其他杂醇油成分基本无显色反应，故采用异丁醇、异戊醇配成杂醇油标准液，其构成比 (1+4) 较接近酒中杂醇

油成分。

② 若样品含色素等干扰物质，可准确量取样品 50mL，加水 10mL，进行蒸馏，收集蒸馏液 50mL，再按上法测定。

③ 加入对二甲氨基苯甲醛-硫酸溶液前后，必须将样品、标准各管充分置冰水浴中冷却，试剂必须缓慢加入。

④ 样品管及标准系列色调可能不一致，主要原因是样品及标准管中成分不尽相同，如酒样中杂醇油不仅限于异戊醇和异丁醇。亦有人认为以糖为原料酿制的酒，显色较深。

五、锰残留量检验

1. 实验目的

掌握蒸馏酒和发酵酒中测定锰残留量的基本方法（高碘酸钾比色法）。

2. 实验原理

酒中锰的来源，主要是加工生产中以高锰酸钾作氧化剂，氧化酒基中还原性物质，达到去除酒基中杂质、脱除臭味的目的，使酒中含锰量增加；发生铁浑浊的白酒，加入高锰酸钾使铁沉淀；也可导致酒中锰含量增加。食品卫生标准规定酒中锰残留量不得超过 2mg/L。

试样经消化后在酸性条件下二价锰被高碘酸钾氧化成七价锰，呈紫红色，与标准比较定量。

3. 实验材料与仪器

(1) 试剂

① 硫酸，磷酸，高碘酸钾，硝酸。

② 锰标准贮备溶液 [ρ(Mn)=1.0mg/mL]。精密称取 0.2746g 经 400～700℃灼烧至恒重的硫酸锰，或 0.3073g 含 1 分子水的硫酸锰或 0.4055g 含 4 分子水的硫酸锰，加水溶解后，转入 100mL 容量瓶中，加入 3 滴硫酸，加水至刻度。

③ 锰标准使用液 [ρ(Mn)=2.0μg/mL]。吸取锰标准贮备溶液 1.0mL 于 100mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，混匀。再吸取此液 10.0mL 用水定容至 50.0mL，临用前配制。

(2) 仪器　分光光度计。

4. 实验步骤

(1) 锰标准曲线的绘制　取 6 只锥形瓶，依次加入 0、1.0mL、2.0mL、3.0mL、4.0mL、5.0mL 锰标准使用液（相当于 0、2.0μg、4.0μg、6.0μg、8.0μg、10.0μg 锰）后，分别加水至 20mL，并依次加 2mL 硫酸，再加入 1.5mL 磷酸和 0.3g 高碘酸钾，混匀。于小火煮沸 5min，移入 25mL 比色管中，以少量水洗涤锥形瓶一并移入比色管中，加水至刻度，混匀。用 3cm 比色杯，在 530nm 波长处测定吸光度（A_{530nm}），以锰标准溶液为横坐标，以吸光度值 A_{530nm} 为纵坐标绘制标准曲线。

(2) 样品中锰残留量测定

① 试样消化。吸取 50mL 酒样，加热除去乙醇后，加入 20mL 硫酸、10mL 硝酸进行消化，消化结束，加水稀释，冷后转入 100mL 容量瓶中定容至 100mL，备用。

② 吸取试样消化液 10.0mL（相当于原试样 4mL）于 100mL 锥形瓶中，加水至 22mL，混匀（其中含 2mL 硫酸液量，如不足 2mL，应加到 2mL）。

③ 样品中锰残留量测定方法同 (1)。

5. 结果计算

(1) 锰标准曲线　以锰标准液浓度为横坐标，以吸光度值为纵坐标绘制标准曲线，列出锰标准曲线示意图及回归方程和相关系数 R^2。

(2) 锰含量计算　试样中锰的含量：$X=\dfrac{m\times1000}{V_1\times(V_3/V_2)\times1000}$

式中，X 为试样中锰的含量，mg/mL；m 为测定试样消化液中锰的质量，μg；V_1 为试样体积，mL；V_2 为试样消化液总体积，mL；V_3 为测定用消化液体积，mL。

6. 注意事项

① 若酒样不含有机杂质，可直接取酒样 5mL 于锥形瓶中，挥除乙醇后加水至 20mL，再加入硫酸 2mL，以下按标准管操作。

② 加入磷酸可以与铁等多种元素生成配合物以消除干扰，并使氧化过程稳定进行。

六、实验结果汇总分析

将实验结果录入表 8-2 中，并分析原因。

表 8-2　蒸馏酒和发酵酒卫生检验

项　目	蒸馏酒	发酵酒
感官检验		
乙醇浓度检验/(g/100mL)		
甲醇浓度检验/(g/100mL)		
杂醇油浓度检验/(g/100mL)		
锰残留量检验/(mg/mL)		

七、思考题

1. 样品和标准溶液中的乙醇浓度是否对结果有影响，如何避免？

2. 实验中为何选用不同规格的比色杯？

实验三　鱼类、蛋类的卫生检验

一、鱼类的卫生检验

1. 实验目的

鱼的种类繁多，因此，不易制订出完全一致的检验标准。其检验方法有感官检验和实验室检验法两种，通常以感官检验法为主，必要时再配合理化及微生物检验法，然后进行综合判定。本实验主要掌握鲜鱼卫生检验的一般方法和卫生评价。

2. 实验原理

鱼类感官质量主要是依据 12 项主要指标进行评定，如表 8-3 所示。

鱼类微生物与理化指标检测分别参考《微生物检验》和《食品质量检验技术》有关内容。

3. 实验材料与仪器

(1) 样品　鲜鲤鱼。

(2) 器材　不锈钢盘、剪刀、竹签。

4. 实验步骤

(1) 感官检验　主要着眼点和顺序为体表状态，鱼的僵硬度，鳃和眼的状态，气味和内脏的状态等。

表 8-3　鲜鱼新鲜度的鉴定方法与评价标准

指　标	检 验 方 法	新鲜鱼的特征	次新鲜鱼的特征	腐败鱼的特征
尸僵	拿起被检鱼，大鱼托住鱼体中部使水平侧卧，小鱼握住鱼头，使鱼竖起	鱼体水平或竖起挺直	尸僵消失，鱼体两端下垂	鱼体两端下垂或偏垂不直
肉质硬度	以手指按鱼体肉质丰厚部位，如背部或尾部之侧肌	肉质紧密富有弹性、不留指凹	肌组织紧密，有弹性，压陷很快平复	肉质松软，较长时间内残留指痕，严重腐败时，见肋刺与椎体突出，肉骨分离
色泽	视检体表	体表有透明体，并且具该种鱼固有的自然色泽，美观而发亮	色较暗淡，光泽差	体表无透明体，色变暗或呈灰白色，暗淡无光
体表黏液	视检体表，并取黏液，拇指间研磨发热后，闻其臭味	黏液少而均匀地分布于体表，无色透明，具固有的鱼腥味	黏液透明度差或降低	黏液污秽而具异味
鱼鳞	视检全身鱼鳞及其在鱼体上固着的情况	鳞片有光泽，纹理清晰牢固地固着于鱼体，不易脱落	鳞不完全，较易脱落	鳞片暗淡无光，纹理模糊不清，易脱落，鱼体鳞片被覆不全
眼睛	视检眼部并以竹签拨动眼球辅助观察	眼球饱满无皱折，稍突出眼眶，角膜透明富弹性，眼球原位不易移动，眼前房内与虹膜的颜色正常不发红	眼球平坦或稍凹陷，角膜暗淡或微浑浊，眼前房内与虹膜有红染现象	眼球塌下有皱折，角膜不透明而松软，眼球浑浊容易拨动，眼前房与虹膜逐渐充血腐败时，因溶血而变红甚至污秽
鳃	掀开鳃盖对光观察鳃板状况，嗅其气味，必要时剪开鳃盖切取小块鳃板，浸入热水中经 5min 后，嗅其气味	鳃盖清洁紧闭，质地坚硬，鳃内清洁，鳃丝呈鲜红、血红、紫红或浅红等颜色，上面被覆有少量无色透明的黏液，无特殊臭味	鳃盖较松，鳃丝紫红、淡红或暗红色，被覆黏液稍浑浊，鱼腥味较重	鳃盖松弛容易掀起或自行开张，鳃质松软易破碎，表面污秽。鳃内不洁，有血液线虫等。鳃丝呈灰色至黄绿色或污赤色。被覆黏液增多，污秽不透明，有潮湿酸败异味或臭味
肛门	观察肛门及附近组织	肛门呈白色或淡红色，不突出，呈圆形的陷凹，肛孔无破裂现象	肛门开张，肛门周围的凹陷消失	肛门突出，有破裂现象，肛门黏膜呈褐色
腹部	观察并触压腹部	腹部坚实，不残留压痕，无腐败气味或异常变化	腹部稍膨胀，稍软	腹部松软，膨胀，残留压痕或破口，有异常气味
肉质气味	用洁净的小木片或竹签插入鱼体肌肉的深部，然后拔出，立即嗅察其气味，或取两块鱼肉作煮沸试验	无异味	稍有异味	有异味、臭味
脏器检查	切开鱼体侧腹壁肌肉，揭开腹腔，观察内脏	各脏器完整，保持原有形态色泽，无腐败、溶解现象，胆囊充满胆汁，但不外溢	肝脏失去原形，胆汁扩散，浸染周围组织	脏器不完整，有腐败溶解现象。胆囊周围组织器官被渗出的胆汁着染成黄绿色（走胆现象）
脊柱旁发红现象	剔过脊柱旁侧的肌肉，观察沿脊柱旁肌肉的颜色	无变化	呈现红色条纹	肌肉变红
细菌学	触片，镜检	无菌或仅发现少量球菌和杆菌，标本着染不良，看不见有分染的组织	表层肌肉触片有 30～60 个球菌或杆菌，深层肌肉触片有 20～30 个细菌，标本着染良好，能见着染的分解组织	表层肌肉触片有 60 个以上的细菌，且主要为杆菌，深层肌肉触片有多于 30 个细菌，标本着染浓，可见很多着染的分解组织

① 体表状态的检查。观察鱼鳞的色泽和完整情况以及黏液多少和透明度等，然后用手指触检鱼体，以测定体表黏液的性质和浓稠程度。必要时用清洁的纸张或竹片刮取黏液、嗅检其气味。再检视腹部有无膨胀现象，同时要注意观察肛门周围的情况和肛门是否突出。

② 鱼僵硬度的检查。检查时，当鱼重不超过0.5kg，则将鱼体中部放在1～2个手指上，鱼重1～10kg时，放在手掌上；鱼重10kg时，放于窄木凳上，然后观察头、尾的下垂情况（图8-2）。

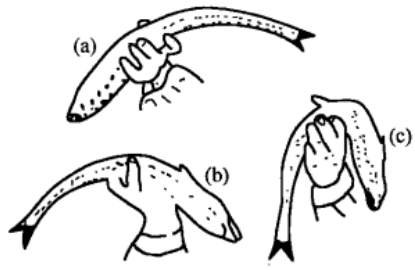


图8-2 鱼的硬度检查

③ 鱼肉硬度的检查。用手指按压鱼体背部侧肌最厚的部位，以触其硬度和弹性。

④ 鳃和眼的检查。主要观察鳃的颜色、气味和有无黏液等形成。检查眼时则观察角膜透明度，眼球位置的变化等。

⑤ 气味的检查。直接嗅闻体表、鳃、肌肉和内脏的气味。也可用木签刺入肌肉深层，拔出后立即嗅闻之。必要时尚可取鱼肉放在水中煮沸后进行嗅检。

⑥ 内脏的检查。先用剪刀刺入泄殖孔，顺白线切到头部，然后由泄殖孔向背侧切开，直到侧线上方，再顺着切开腹壁到头部，这样即将全部内脏露出。主要检查肝、胃、肠、心、脾、肾的变化情况。然后横断脊柱，观看有无脊柱旁红染现象。

（2）细菌学检验　去除体表不洁之物，用点燃的酒精棉球消毒体表，灭菌手术刀从肌肉表层和深层采取小块肉做触片。室温干燥，火焰固定，革兰染色，镜检。

（3）理化检验　参照食品质量检验技术部分。

（4）卫生评价和处理

① 新鲜鱼。自由食用，不受限制。

② 次鲜鱼。对次鲜鱼应注意其保藏条件，并尽可能早销售，以防腐败。如果实验室检验结果也证明肌肉组织处于腐败初期时，通常可立刻供作食用（以高温烹调为宜）。禁止保存，并严格控制出售前的保藏条件。如发现进一步变坏时，应作腐败鱼处理。

③ 腐败鱼。禁止食用，依其腐败程度可加工为饲料、工业用或销毁。

二、蛋类的卫生检验

1. 实验目的

掌握鲜蛋感官、透视、密度、蛋形指数、蛋黄指数、哈夫单位的测定方法。

2. 实验原理

凭借检验人员的感觉器官鉴别蛋的质量，主要靠眼看、手摸、耳听、鼻嗅4种方法进行综合判定。外观检查虽简便，但对蛋的鲜陈、好坏只能有个大概的鉴别。

蛋在贮藏过程中，由于蛋内水分不断蒸发，使气室日益增大，同时蛋的密度下降。利用照蛋器的灯光来透视被检蛋，可见到气室的大小、内容物的透光程度、蛋黄移动的阴影及蛋内有无色斑、黑点和异物等。灯光照蛋的方法简便易行，对鲜蛋的质量有决定性把握。

蛋的形状用蛋形指数表示。蛋形指数即蛋的纵径与蛋的横径之比。由于圆形的蛋比筒形的蛋耐压性强，故包装运输时最好剔除筒形的畸形蛋，以免运输过程中破壳。

蛋黄指数（又称蛋黄系数）是蛋黄高度除以蛋黄横径所得的商。蛋越新鲜，蛋黄膜包得越紧，蛋黄指数就越高；反之，蛋黄指数就越低，因此，蛋黄指数可表明蛋的新鲜程度。蛋黄指数是表示蛋黄体积增大的程度，蛋愈陈旧，蛋黄指数愈小。

蛋白哈夫单位是根据蛋重和浓厚蛋白高度，按一定公式计算出其指标的一种先进方法，可以衡量蛋白质和蛋的新鲜度，是现代国际上评定蛋品质量的重要指标和常用方法。

3. 实验材料与仪器

(1) 样品　鲜蛋。

(2) 器材　照蛋箱，气室测量规尺，蛋形指数计，游标卡尺，高度游标卡尺（或蛋黄指数测定仪）。

4. 感官检验

(1) 实验步骤　逐个拿出待检蛋，先仔细观察其形态、大小、色泽、蛋壳的完整性和清洁度等情况；然后仔细观察蛋壳表面有无裂痕和破损等；利用手指摸蛋的表面和掂重，必要时可把蛋握在手中使其互相碰撞以听其声响；最后嗅检蛋壳表面有无异常气味。

(2) 判定标准及卫生处理

① 新鲜蛋。蛋壳表面常有一层粉状物；蛋壳完整而清洁，无粪污、无斑点；蛋壳无凹凸而平滑，壳壁坚实，相碰时发声清脆而不发哑声；手感发沉。

② 破蛋类

a. 裂纹蛋（哑子蛋）。鲜蛋受压或震动使蛋壳破裂成缝而壳内膜未破，将蛋握在手中相碰发出哑声。

b. 格窝蛋。鲜蛋受挤压或震动使鲜蛋蛋壳局部破裂凹下而壳内膜未破。

c. 流清蛋。鲜蛋受挤压、碰撞而破损，蛋壳和壳内膜破裂而蛋白液外流。

③ 劣质蛋。外观往往在形态、色泽、清洁度、完整性等方面有一定的缺陷。如腐败蛋外壳常呈乌灰色；受潮霉蛋外壳多污秽不洁，常有大理石样斑纹；孵化或漂洗的蛋，外壳异常光滑，气孔较显露。有的蛋甚至可嗅到腐败气味。

卫生处理方法如表 8-4 所示。

5. 灯光透视检验

(1) 实验步骤

① 照蛋。在暗室中将蛋的大头紧贴照蛋器的洞口上，使蛋的纵轴与照蛋器成约 30°倾斜，先观察气室大小和内容物的透光程度，然后上下左右轻轻转动，根据内容物移动情况来判断气室的稳定状态和蛋黄、胚盘的稳定程度，以及有无色斑、黑点和游动物等。

② 气室测量。气室测量是由特制的气室测量规尺（图 8-3）测量后，加以计算来完成的。气室测量规尺是一个刻有平行线的半圆形切口的透明塑料板。测量时，先将气室测量规尺固定在照蛋孔上缘，将蛋的大头端向上正直地嵌入半圆形切口内，在照蛋的同时即可测出气室的高度和气室的直径，读取气室左右两端落在规尺刻线上的数值（即气室左、右边的高度），按下式计算。

$$\text{气室高度}=(\text{气室左边高度}+\text{气室右边高度})/2$$

(2) 判定标准及卫生处理　卫生处理方法参见表 8-4。

6. 密度测定

(1) 实验步骤　新鲜蛋的密度在 1.08～1.09g/cm^3 左右，陈蛋的密度降低。通过测定蛋的密度即可推断其新鲜度。测定时先配制成 11%、10%和 8%三种含量的食盐溶液，其相对密度分别为 1.080、1.073 和 1.060，用比重计校正后分盛于大烧杯内。将被检蛋依次放入三个烧杯检验。

(2) 判定标准　在相对密度为 1.080 的食盐水中下沉者为最新鲜蛋；若上浮者转入相对密度 1.073 的食盐水中，下沉者为新鲜蛋；若上浮者再转放于相对密度 1.060 的食盐水中，下沉者为次鲜蛋（合格蛋），上浮者为陈蛋或腐败蛋。

7. 蛋形指数的测定

(1) 实验步骤　蛋形指数测定方法可用蛋形指数计来测定，见图 8-4。亦可用游标卡尺测量蛋的纵径与最大横径，以毫米为单位，精确度为 0.5mm。

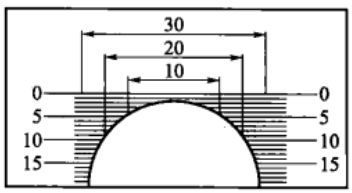


图 8-3　气室测量规尺

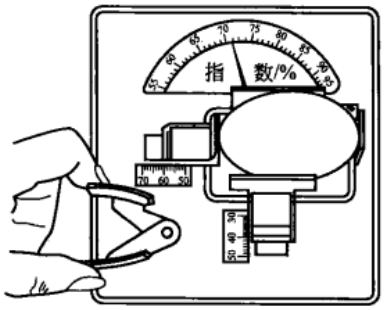


图 8-4　蛋形指数计

表 8-4　蛋类的新鲜度判定标准及卫生处理

新鲜度		判定指标	卫生处理
最新鲜蛋		气室高度≤4mm；透视全蛋呈橘红色，蛋黄不显现，内容物不流动	
新鲜蛋(产后 2 周内)		气室高度 5～7mm；透视全蛋呈红黄色，蛋黄所在处颜色稍深，蛋黄稍有转动	可供冷冻贮存
普通蛋(产后 2～3 月内)		气室高度≤10mm；透视内容物呈红黄色，蛋黄阴影清楚，能够转动，且位置上移，不居中央	应速销售，不宜贮存
变质蛋	热伤蛋	因受热时间较长，胚珠变大，但胚胎不发育(胚胎死亡或未受精)，无血管	不得销售
	红贴壳蛋	因贮存时未翻动或受潮，照蛋时见气室增大，贴壳处呈红色，称红贴壳帽。打开后蛋壳内壁可见蛋黄粘连痕迹，蛋黄与蛋白界限分明，无异味	
	轻度黑贴壳蛋	红贴壳蛋形成日久，贴壳处霉菌侵入生长变黑，照蛋时蛋黄粘壳部分呈黑色阴影，其余部分蛋黄仍呈深红色。打开后可见贴壳处有黄中带黑的粘连痕迹，蛋黄与蛋白界限分明，无异味	
	散黄蛋	因受剧烈震动或受热受潮，在酶的作用下，蛋白变稀，水分渗入蛋黄而使其膨胀，蛋黄膜破裂。照蛋时蛋黄不完整或呈不规则云雾状。打开后黄白相混，但无异味	
	轻度霉蛋	蛋壳外表稍有霉迹。照蛋时见壳膜内壁有霉点，打开后蛋液内无霉点，蛋黄蛋白分明，无异味	
腐败变质蛋	重度黑贴壳蛋	由轻度黑贴壳蛋发展而成。其粘贴着的黑色部分超过蛋黄面积 1/2 以上，蛋液有异味	禁止食用
	重度霉蛋	外表霉迹明显。照蛋时见内部有较大黑点或黑斑。打开后蛋膜及蛋液内均有霉斑，蛋白液呈冻样霉变，并带有严重霉气味	
	泻黄蛋	蛋贮存条件不良，微生物进入蛋内并大量生长繁殖，引起蛋黄膜破裂。照蛋时黄白混杂不清，呈灰黄色。打开后蛋液呈灰黄色，变稀，浑浊，有异味	
	黑腐蛋	又称老黑蛋、臭蛋，是由上述各种劣质蛋和变质蛋继续变质而成。蛋壳呈乌灰色，甚至因蛋内产生的大量硫化氢气体而膨胀破裂，照蛋时全蛋不透光，呈灰黑色，打开后蛋黄蛋白分不清，呈暗黄色、灰绿色或黑色水样弥漫状，并有恶臭味	
	孵化蛋	照蛋时，在较大的胚胎周围有树枝状血丝、血点，或已能观察到小雏体的眼睛或者已有成形的死雏。死胎蛋多因感染细菌、霉菌或病毒等病原微生物所致，加之蛋白质腐败变质产生的有毒物质，存在严重的食品安全隐患	

(2) 计算方法

蛋形指数＝纵径(mm)/横径(mm)

(3) 判定标准　正常鸡蛋为椭圆形，蛋形指数多为 1.30～1.35。

8. 蛋黄指数的测定

(1) 实验步骤　测定时将蛋打在水平的玻璃板上，在蛋白与蛋黄不分离的状态下，用高度游标卡尺量出蛋黄高度，再用普通游标卡尺量出蛋黄宽度。量时以卡尺刚接触蛋黄膜为宜，且应在90°的相互方向上各测两次，求其平均数。

(2) 计算方法

$$\text{蛋黄指数}=\text{蛋黄高度(mm)}/\text{蛋黄宽度(mm)}$$

(3) 判定标准　新鲜蛋的蛋黄指数为0.38～0.44，普通蛋的蛋黄指数为0.35～0.38，合格蛋蛋黄指数为0.30～0.35。

9. 哈夫单位的测定

(1) 实验步骤

① 先称蛋重（0.1g），将蛋从中间打开，内容物倒在水平玻璃板上

② 高质量的浓蛋白几乎完全均匀地附着在蛋黄周围，因此，所选测定点应在浓蛋白外缘与蛋黄边沿接线的中点部分。但实际上，打开在玻璃板上的浓蛋白并非均匀地附在蛋黄周围，而总是有某一部分较宽，一般都是以在距蛋黄1cm处浓蛋白最宽部分的高度作为蛋白的高度。

③ 用高度游标卡尺测量蛋白高度（0.1mm）。

(2) 计算方法　按下式计算蛋白的哈夫单位。

$$Hu=100\times\lg(H-1.7\times W^{0.37}+7.6)$$

式中，Hu表示哈夫单位；H为蛋白的高度，mm；W为蛋的质量，g。

注：亦可根据哈夫单位计算表直接查出结果，见表8-5。

(3) 判定标准　优质蛋哈夫单位72以上，中等蛋哈夫单位60～71，次质蛋哈夫单位31～60。

表8-5　哈夫单位计算表

蛋白高度/mm	蛋重/g																				
	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
3.0	52	51	51	50	49	48	48	47	46	45	44										
3.1	53	53	52	51	50	50	49	48	48	47	46										
3.2	54	54	53	52	52	51	50	50	49	48	48										
3.3	56	55	54	54	53	52	52	51	50	50	49										
3.4	57	56	56	55	54	54	53	52	52	52	51										
3.5	58	58	57	56	56	55	54	54	53	53	52										
3.6	59	59	58	58	57	56	56	55	54	54	53										
3.7	60	60	59	59	58	58	57	56	56	55	54										
3.8	62	61	60	60	59	59	58	57	57	56	56										
3.9	63	62	61	61	60	60	59	59	58	57	57										
4.0	64	63	63	62	61	61	60	60	58	59	58										
4.1	65	64	64	63	62	62	61	61	60	60	59										
4.2	66	65	65	64	64	63	62	62	61	61	60										
4.3	67	66	66	65	65	64	64	63	63	62	60										
4.4	68	67	67	66	66	65	65	64	64	63	63										
4.5	69	68	68	67	67	66	66	65	65	64	64										
4.6	70	69	68	68	68	67	67	66	66	65	65										
4.7	70	70	69	69	68	68	68	67	67	66	66										
4.8	71	71	70	70	69	69	69	68	68	67	67										

续表

蛋白高度/mm	蛋重/g																				
	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
4.9	72	72	71	71	70	70	70	69	69	68	68										
5.0	73	72	72	72	71	71	70	70	69	69	69	68	68	67	67	67	66	66	65	65	64
5.1	74	73	73	72	72	71	71	71	70	70	69	69	69	68	67	67	67	67	66	66	65
5.2	74	74	74	73	73	72	72	71	71	71	70	70	70	69	68	68	68	68	67	67	66
5.3	75	75	74	74	73	73	73	72	72	71	71	71	70	70	69	69	69	68	68	68	67
5.4	76	76	75	75	74	74	73	73	73	72	72	71	71	71	70	70	70	69	69	69	68
5.5	77	76	76	76	75	75	74	74	74	73	73	72	72	72	71	71	71	70	70	69	69
5.6	77	77	77	76	76	75	75	75	74	74	74	73	73	72	72	72	71	71	71	70	70
5.7	78	78	77	77	76	76	76	75	75	75	74	74	74	73	73	73	72	72	71	71	71
5.8	78	78	78	78	77	77	77	76	76	75	75	75	74	74	73	73	73	73	72	72	72
5.9	79	79	79	78	78	78	77	77	77	76	76	75	75	75	74	74	74	73	73	73	72
6.0	80	80	80	79	79	78	78	78	77	77	77	76	76	76	75	75	75	74	74	74	73
6.1	81	81	80	80	79	79	79	79	78	78	77	77	77	76	76	76	75	75	75	74	74
6.2	82	81	81	80	80	80	79	79	78	78	78	78	77	77	77	76	76	76	75	75	75
6.3	83	82	81	81	81	80	80	80	79	79	79	78	78	78	77	77	77	76	76	76	76
6.4	83	83	82	82	81	81	81	80	80	80	79	79	79	78	78	78	78	77	77	76	76
6.5	83	83	82	82	82	82	81	81	81	80	80	80	80	79	79	79	78	78	78	77	77
6.6	84	84	83	83	83	82	82	82	81	81	81	81	80	80	80	79	79	79	78	78	78
6.7	85	84	84	84	83	83	83	82	82	82	81	81	81	80	80	80	80	79	79	79	78
6.8	85	85	85	84	84	84	83	83	83	82	82	82	82	81	81	81	80	80	80	79	79
6.9	86	86	85	85	85	84	84	84	84	83	83	82	82	82	82	81	81	81	80	80	80
7.0	86	86	86	86	85	85	85	84	84	84	83	83	83	83	82	82	82	81	81	81	80
7.1	87	86	86	86	86	86	85	85	85	84	84	84	84	83	83	83	82	82	82	81	81
7.2	88	87	87	87	86	86	86	86	85	85	85	84	84	84	84	83	83	83	82	82	82
7.3	88	88	88	87	87	87	86	86	86	86	85	85	85	84	84	84	84	83	83	83	83
7.4	89	89	88	88	88	87	87	87	86	86	86	86	85	85	85	85	84	84	84	83	83
7.5	89	89	89	89	88	88	88	87	87	87	87	86	86	86	85	85	85	85	84	84	84
7.6	90	90	89	89	89	89	88	88	88	87	87	87	87	86	86	86	86	85	85	85	84
7.7	91	90	90	90	89	89	89	89	88	88	88	88	87	87	87	86	86	86	86	85	85
7.8	91	91	91	90	90	90	89	89	89	89	88	88	88	88	87	87	87	86	86	86	86
7.9	92	91	91	91	90	90	90	89	89	89	89	89	88	88	88	88	87	87	87	87	86
8.0	92	92	92	91	91	91	90	90	90	90	89	89	89	89	88	88	88	88	87	87	87
8.1	93	92	92	92	92	91	91	91	90	90	90	90	89	89	89	89	88	88	88	88	87
8.2	93	93	93	92	92	92	92	91	91	91	91	90	90	90	89	89	89	89	88	88	88
8.3	94	94	93	93	93	92	92	92	92	91	91	91	91	90	90	90	90	89	89	89	89
8.4	94	95	94	93	93	93	93	92	92	92	92	91	91	91	91	90	90	90	90	89	89
8.5	95	96	94	94	94	94	93	93	93	92	92	92	92	91	91	91	91	90	90	90	90
8.6	96	96	95	95	94	94	94	93	93	93	93	93	92	92	92	92	91	91	91	91	90
8.7	96	96	95	95	95	94	94	94	94	93	93	93	93	93	92	92	92	92	92	91	91
8.8	96	96	96	95	95	95	95	94	94	94	94	93	93	93	93	93	92	92	92	92	91
8.9	97	97	96	96	96	95	95	95	95	94	94	94	94	94	93	93	93	92	92	92	92
9.0	97	97	97	96	96	96	96	95	95	95	95	94	94	94	94	93	93	93	93	92	92

三、思考题

1. 冻鱼如何进行感官检验？
2. 鱼脊柱旁出现发红现象是何原因？
3. 蛋形指数测定的意义是什么？

实验四　罐藏制品的常规检验实验

一、实验目的

1. 掌握罐藏制品的常规卫生检验方法。
2. 掌握罐藏制品的卫生评价与处理标准。

二、实验原理

肉类罐头卫生标准 GB 13100—2005，果蔬罐头卫生标准 GB 11671—2003，食用菌罐头卫生标准 GB 7098—2003，鱼罐头卫生标准 GB 14939—2005，罐头食品代号的标示要求 QB 2683—2005，罐头食品分类 GB/T 10784—2006，罐头食品的检验方法 GB/T 10786—2006，罐头食品商业无菌检验 GB/T 4789.26—2003，罐头食品包装、标志、运输和贮存 QB/T 3600—1999。

三、实验材料与仪器

（1）样品　肉类罐头，水果罐头。

（2）器材　外科刀，放大镜，金属探针，真空测定器，扭力天平，开罐器，直尺，玻璃漏斗，50mL 烧杯，500mL 量筒，木槌，搪瓷盘，灭菌镊子，灭菌勺子，纱布或毛巾，水浴锅，标签纸，恒温箱。

四、实验步骤

1. 外观检查

（1）商标及硬印　罐头检验应首先检查其商标和硬印是否符合规定，是否与内容物相一致。商标应标明产品名称、重量及生产厂家等；而硬印应包括罐头的生产日期，批号班次，生产厂家及产品名称的代号。罐头产品代号的打印办法按行业标准执行。

（2）罐体外表检查　撕下商标纸，检查接缝和卷边是否正常，焊锡是否完整均匀；卷边处有无皱褶、切角、铁舌，裂隙有无流胶现象；罐身及盖底有无凹陷变形及锈蚀现象。如有锈斑，应以小刀轻轻刮去锈层，仔细观察有无穿孔。必要时可用扩大镜观察并以针探测。

（3）敲打实验　罐头放于桌上，以木槌敲打盖面，良好的罐头面应凹陷，发出清脆实音。不良罐头表面膨胀，发音不清脆，有浑浊的鼓音。

（4）玻璃罐头　玻璃罐身是否透明，有无气泡，嵌盖有无膨胀现象，封口是否严密完整，罐口橡皮圈有无熔化或龟裂现象。

2. 密闭性实验

把罐头标签撕掉，罐身洗净擦干，然后把罐头浸没在水中，水面应高出罐头 3～5cm。将水加热到 85℃以上，经 5～7min，细心观察罐头周围有无成串的小气泡逸出。如系玻璃罐头时，应预先浸入不高于 40℃的温水中，然后再放入 85℃以上的热水中，以免骤热爆裂。

密闭性良好的罐头，煮沸数分钟后底盖突起。如果罐头密闭性不良，在罐头表面漏气的地方出现一连串的小气泡。若仅有 2～3 个气泡出现自卷边和接缝部分，则可能是卷边或折压缝

内原来含有的空气，而不是漏气，需要进一步判断。

3. 真空度测定

罐头内的真空度是指罐内气压和罐外气压的差数。如罐外气压为 760mmHg❶，罐内压力为 460mmHg，其真空度即为 300mmHg。因此，测定真空度不仅能鉴定罐头的优劣，而且能检验排气和密封两道工序的基本操作是否符合规定的要求。

（1）方法　右手紧握真空测定器的表壳，使空管针外的橡皮座底面平贴于罐盖面上，在罐盖的凸圈隆起部位用力下压，使橡皮座里的空管针刺穿罐盖，插进罐内，随即观察并记录表内指针所指的刻度。在读数之前切勿放松向下的压力，以免外界空气窜入罐内，影响测定效果的准确性。

（2）校正　测定真空度以大气压 760mmHg、室温 20℃时为标准，故测定真空度时，如在 20℃以上时，每增加 5℃，应增加 30mmHg。

（3）判定　在一般情况下，于室温下检查的真空度要求在 230～280mmHg，不得低于 200mmHg。

4. 罐头膨听的鉴别

（1）方法　将检查密闭性后的罐头擦干，贴上标有编号与送检日期的标签，然后送入 37℃温箱中，经 5 昼夜后取出，置于室温，使罐头降至室温时，观察记录其膨胀现象。

（2）判定　正常罐头不见膨胀，或者当冷至室温时膨胀自行消退。

生物性膨听罐则在 37℃、5d 保温后膨胀更显著，物理性及化学性膨听无显著变化。各种膨听的发生原因以及鉴别与评价处理的方法见表 8-6。

表 8-6　几种膨听的鉴别和处理

膨听的类别	膨听的原因	鉴别					处理
		敲打检查	按压实验	膨胀试验	真空度检查	穿孔检查	
生物性膨听	由于罐内的细菌发育，产生气体而引起	有内容空虚的感觉，发出鼓音	用手指强压罐盖，不能压下或去除压力后立即恢复	置 37℃温箱内经 5 昼夜，膨胀更显著	真空度为 1～3 大气压①	逸出气体，并有腐败气味	工业用或销毁
化学性膨听	由于罐头酸性内容物与金属容器作用产生氢气而引起	有内容空虚的感觉，发出鼓音	用手指强压罐盖，不能压下或去除压力后立即恢复	置 37℃温箱内经 5 昼夜，无明显变化	真空度为 1～3 大气压	有气体逸出，无腐败气味。但常有酸味或不快的金属气味	工业用或销毁
物理性膨听	1. 由于食品在装罐时温度很低，装入食品过多而引起。2. 由于罐头内容物冻结时罐内水分膨胀的结果。3. 在高气压地区制造的罐头运到低气压地区后，由于罐内压力相对升高而引起的膨胀	有内容充实感觉，发实音(1,2) 有空虚的感觉发鼓音(3)	用手指强压往往形成不能恢复原状的凹陷(1,2) 用手指强压罐盖一般能被压下去，但去压力后，又见恢复膨胀状态(3)	置 37℃温箱内经 5 昼夜，无变化(1,2,3)	真空度不到 1 个大气压(1,2,3)	无气体逸出(1,2) 无气体逸出，无异常气味(3)	如内容物无变化允许食用，但宜在食用前煮沸半小时以上(1,2) 如果罐头出产地的地势高低有巨大差异且确证无其他原因者准于食用。这种膨胀往往是成批出现(3)

① 1 大气压（atm）＝101325 帕斯卡（Pa）。

❶ 1mmHg＝133.322Pa。

5. 开罐检验

(1) 测总重量　用天平 (0.1g) 称出每个被检罐头的总重量。

(2) 开罐　按细菌学检查要求，用无菌操作仔细开罐，可做细菌学检查。

(3) 顶际测定　用钢尺或直尺测量液汁面与罐身卷缘之距离，以毫米表示，若液汁面低于圆形物表面，则应测量圆形物表面至卷缘下面的距离。

(4) 组织形态检查　先把罐头放入 80～90℃的热水中，加热到汤汁融化，然后打开罐盖，把内容物轻轻地倒入清洁的搪瓷盘中，观察其形态结构，并用玻璃棒轻轻拨动，检查其组织是否完整以及块形大小和块数。同时鉴定内容物中的固形物色泽是否合乎标准要求。

(5) 纯洁度检查　任何罐头均不得含有外来之尘砂、皮屑、毛发、碎骨、血块、淋巴结、草木、虫体及动物排泄物等异物，必要时可用显微镜或放大镜进行检查。鱼类罐头应去内脏、鳍和鳞片。

(6) 油汁状况检验　收集刚完成组织形态鉴定的罐头汤汁，注入 500mL 量筒中，静置 3min 后，观察其色泽和澄清程度。并计算其重量。

(7) 气味与滋味的检验　用嗅觉检查其有无异味，然后取少量内容物在口中咀嚼，品尝其风味。

6. 罐体内壁检查

空罐用温水刷洗后，擦干罐内外残水，观察罐内壁有无变化、有无脱锡现象，以及有无腐蚀、硫化铁黑斑与铁锈斑等现象，特别对于罐盖和罐底，尤其是有硬印部位或罐身卷接部位，应进行仔细检查。

7. 重量计算

依据公式计算罐头各种质量。

内容物净重＝总质量－空罐重＝肉重＋油汁重

油汁重＝油重＋汁重

油重＝油汁体积×0.9

汁重＝汁体积×1

肉重＝内容物净重－油汁重

油重＝内容物净重－(肉重＋汁重)

固体物重＝肉重＋油重

内容物的比重＝固体物重/内容物规定重

固体物百分率＝(固体物重/内容物规定重)×100%

8. 罐头常规卫生检验结果的卫生评价与处理

见表 8-7。

表 8-7　罐头常规卫生检验结果的卫生评价与处理

项目	良　质	次　质	处　理　意　见
外观检查	罐形正常，结构良好，标签完整，无锈蚀，密闭性良好。商标及硬印与内容物相符	变形。裂隙流汁，有锈斑，密闭性差。商标及硬印与内容物不相符	内容物无感官变化时可加热处理或加工做肉酱，如有感官变化时则作工业用
真空度	230～280mmHg	＜200mmHg	内容物无感官变化时可加热处理或加工做肉酱，如有感官变化时则作工业用
顶际高度	小于 1/10 罐高	超过 1/10 罐高，称为“假罐”	内容物无感官变化时可加热处理或加工做肉酱，如有感官变化时则作工业用
气味与滋味	正常风味	有变化	内容物无感官变化时可加热处理或加工做肉酱，如有感官变化时则作工业用
膨听	无膨听	有时有	确证为物理性或化学性膨听者，可允许食用，否则，有膨听现象的罐头一般不准食用
内容物重量	内容物净重符合商标规定，允许个别罐头有±5%的净重差	多数净重不符合商标规定	多数净重不符合商标规定者，作不合格处理
汤汁状态	澄清、透明	有悬浮物或沉淀物，有时汤汁浑浊	对有悬浮物、沉淀物或浑浊现象者按次品处理
纯洁度	无异物	有异物	对含异物的罐头按次品处理

罐头的检验结果还应参考物理化学检验和微生物学检验的结果加以综合判定。

五、实验结果

将实验结果录入表 8-8，并分析原因。

表 8-8　罐藏制品检验结果

项　目	肉类罐头	水果罐头	项　目	肉类罐头	水果罐头
外观			开罐检验		
密闭性			罐体内壁		
真空度			质量		
罐头膨听					

六、思考题

1. 罐头产品的分类有哪些？
2. 测罐头内容物质量时应注意哪些问题？
3. 罐头膨听种类的判别方法是什么？

实验五　鲜乳的综合检验

一、实验目的

1. 掌握生鲜牛乳的感官鉴别方法。
2. 掌握生鲜牛乳的密度/比重、乳脂肪、酸度等理化指标的测定方法。
3. 掌握生鲜牛乳的常见掺假鉴定的方法。
4. 掌握生鲜牛乳中部分抗生素残留的 TTC 检测方法。

二、实验原理

正常牛乳应为乳白色或微带黄色，不得含有肉眼可见的异物，不得有红色、绿色或其他颜色。不能有苦、咸、涩的滋味和饲料、青草、霉等其他异常味道。

乳比重大小与奶中固体物质及脂肪含量有关，测定比重既可评价乳的成分，也可判断是否掺水等情况。

正常鲜乳酸度为 16～18°T。乳中酸度增加，往往是由于细菌分解鲜乳中乳糖产生乳酸的结果，故常以此酸度来判断乳的新鲜程度。一定浓度的酒精能使高于一定酸度的牛乳产生沉淀。乳中蛋白遇到同一浓度的酒精，其凝固与乳的酸度成正比，即凝固现象愈明显，酸度愈大，否则相反。乳中酪蛋白胶粒带有负电荷。酪蛋白胶粒因具有亲水性，在胶粒周围形成了结合水层，所以酪蛋白在乳中以稳定的胶体状态存在。当乳的酸度增高时，酪蛋白胶粒带有的负电荷被 H^+ 中和。酒精具有脱水作用，浓度愈大，脱水作用愈强。酪蛋白胶粒周围的结合水层易被酒精脱去而发生凝固。

乳中掺淀粉和盐可提高乳比重；掺豆浆可使乳成本降低；掺甲醛主要用于防腐。利用相关化学反应原理可以检出。

鲜乳保藏不好时酸度往往升高，加热煮沸时会发生凝固。为了避免被检出高酸度乳，有时向乳中加碱。利用酸碱指示剂可以检出。

TTC 法检测乳中抗生素残留是国标法之一，操作简单。若检样中有抗生素存在，则会抑

制细菌的繁殖，TTC 指示剂不被还原、不显色；反之，则细菌大量繁殖，TTC 指示剂被还原而显红色，从而可以判定有无抗生素残留。

三、实验材料与仪器

1. 样品

新鲜乳。

2. 试剂

浓硫酸，异戊醇，0.5%酚酞乙醇溶液，0.1% NaOH 溶液，68%、70%、72%中性酒精，碘液（碘的酒精溶液或 0.1mol/L 的碘液），0.04%溴麝香草酚蓝溶液，碘溶液（2g 碘，4g 碘化钾溶于 100mL 水），硫酸-硝酸混合液（100mL 硫酸加 1 滴硝酸），1.75%硝酸银，10%铬酸钾，嗜热乳酸链球菌，4%TTC 指示剂（1g TTC 溶于 5mL 灭菌蒸馏水，褐色瓶，7℃保存，临用前用灭菌蒸馏水稀释至 5 倍，溶液变为玉色或淡褐色时，不能使用），灭菌脱脂乳（113℃，20min）。

3. 器材

乳稠计（20℃/4℃），玻璃圆筒（或 200～250mL 量筒），50℃温度计，盖勃氏乳脂计（颈部刻度为 8%，最小刻度为 0.1%），11mL 牛乳吸管，10mL 硫酸自动吸管，1mL 异戊醇自动吸管，水浴锅，温度计，乳脂计架，碱式滴定管，水浴锅，250mL 锥形瓶，试管，烧杯，移液管。

四、感官检验

检查牛乳的色泽、滋味及气味是否正常，看是否有异常气味，如酸味、牛粪味、腥味和煮熟乳气味等，再用搅棒搅匀牛乳，观察是否存在异常情况。

① 色泽是否带红色、绿色或明显的黄色；

② 是否有大量杂质，如豆渣、牛粪、昆虫等；

③ 牛乳是否发黏或成凝块。

五、密度/比重检测

1. 实验操作步骤

① 将温度为 10～25℃的乳样品混匀，沿 250mL 量筒壁小心地注入至容积的 3/4，勿使发生泡沫；如有泡沫形成，用滤纸条吸去。

② 用三指捏住乳稠计上部，小心沉入乳样中至乳稠计示度约 30 刻度处，放手让乳稠计在乳中自由浮动，切忌与筒壁接触。并沿筒壁插入 50℃温度计 1 支。

③ 静置 1～3min 后，读取乳稠计示数，以乳表面层与乳稠计的接触点即新月形表面的顶点为准，同时读取温度计示度。

2. 实验结果

根据牛乳温度和乳稠计读数，查牛乳温度换算表（见表 8-9），将乳稠计读数换算成 20℃时的度数。

密度（ρ_4^{20}）与乳稠计度数的关系式为：

$$\text{乳稠计度数}(20℃)=(\rho_4^{20}-1.000)\times 1000$$

根据卫生标准（正常乳的相对密度为 1.028～1.032）进行判断。

六、乳脂肪的检测

实验步骤如下所述。

① 将乳脂计置于乳脂计架上，用硫酸自动吸管吸取 10mL 浓硫酸（相对密度 0.81～0.812，沸点 128～132℃）注入乳脂计中，切勿将硫酸滴在颈口上。

表 8-9 牛乳温度换算表

乳稠计度数	鲜乳温度/℃															
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
25	23.3	23.5	23.6	23.7	23.9	24.0	24.2	24.4	24.6	24.8	25.0	25.2	25.4	25.5	25.8	26.0
26	24.2	24.4	24.5	24.7	24.9	25.0	25.2	25.4	25.6	25.8	26.0	26.2	26.4	26.6	26.8	27.0
27	25.1	25.3	25.4	25.6	25.7	25.9	26.1	26.3	26.5	26.8	27.0	27.2	27.5	27.7	27.9	28.1
28	26.0	26.1	26.3	26.5	26.6	26.8	27.0	27.3	27.5	27.8	28.0	28.2	28.5	28.7	29.0	29.2
29	26.9	27.1	27.3	27.5	27.6	27.8	28.0	28.3	28.5	28.8	29.0	29.2	29.5	29.7	30.0	30.2
30	27.9	28.1	28.3	28.5	28.6	28.8	29.0	29.3	29.5	29.8	30.0	30.2	30.5	30.7	31.0	31.2
31	28.8	29.2	29.2	29.4	29.6	29.8	30.0	30.3	30.5	30.8	31.0	31.2	31.5	31.7	32.0	32.2
32	29.3	30.2	30.2	30.4	30.6	30.7	31.0	31.2	31.5	31.8	32.0	32.3	32.5	32.8	33.0	33.3
33	30.7	31.1	31.1	31.3	31.5	31.7	32.0	32.2	32.5	32.8	33.0	33.3	33.5	33.8	34.1	34.3
34	31.7	31.9	32.1	32.3	32.5	32.7	33.0	33.2	33.5	33.8	34.0	34.3	34.4	34.8	35.1	35.3
35	32.6	32.8	33.1	33.3	33.5	33.7	34.0	34.2	34.5	34.7	35.0	35.3	35.5	35.8	36.1	36.3
36	33.5	33.5	34.0	34.3	34.5	34.7	34.9	35.2	35.6	35.7	36.0	36.2	36.5	36.7	37.0	37.3

② 用特制牛乳吸管吸取 11mL 混合均匀的乳样，沿着管壁小心地加入乳脂计内，使乳在硫酸液面上，切勿混合。

③ 用 1mL 异戊醇自动吸管吸取 1mL 异戊醇小心注入到乳脂计内，用橡皮塞塞紧。

④ 用布或纸将乳汁计包裹，压住橡皮塞，充分摇动（注意防止内容物溅出）使蛋白质完全溶解为止。将乳脂计瓶口向下静置数分钟后，于 65～70℃水浴中保温（水浴的水面应高于乳脂瓶的脂肪层），5min 后取出。

⑤ 放入离心机中以 800～1200r/min 的速度离心 5～10min，取出乳脂计瓶，仍瓶口向下放置 65～70℃水浴中保温 5min。

⑥ 取出乳脂计，用手指调节胶塞，使脂肪柱的底边达到颈部的整数刻度处，脂肪柱上部凹形面的底缘读数，即为样品中脂肪的百分数。

⑦ 对照卫生标准（生鲜牛乳脂肪≥3.10%）进行判断。

七、酸度的检测

实验步骤如下所述。

1. 滴定法

① 吸取 10mL 牛乳，移入 250mL 锥形瓶中，加入 20mL 蒸馏水，滴入 0.5%酚酞乙醇溶液 0.5mL，摇匀，用 0.1mol/L NaOH 溶液滴定，至出现浅红色并在 1min 内不消失为终点。

② 将滴定时所消耗的 0.1mol/L NaOH 溶液的体积（mL）乘以 10，即为牛乳的酸度（°T）。

2. 酒精试验法

取 1～2mL 乳于试管中，加入等量的中性酒精（68%或 70%或 72%的酒精），迅速充分混合，如有絮状物（蛋白沉淀）出现，即为酒精阳性乳，否则为酒精阴性乳。

出现絮状物表示酸度高，乳的酸度与酒精体积分数关系见表 8-10。

表 8-10 乳的酸度与酒精体积分数关系

酒精浓度/%	出现絮状物时乳的酸度
68	20°T
70	19°T
72	18°T

八、掺假、掺杂

实验步骤如下所述。

(1) 掺入淀粉、米汤的检测　取 5mL 乳样注入试管中，稍稍煮沸，冷却后加数滴碘液，有淀粉存在时，则有蓝色或青蓝色沉淀物出现。

(2) 掺入碱的检验　取被检乳样 5mL 于试管中，将试管倾斜，沿管壁加入 0.04%溴麝香

草酚蓝溶液 2～3 滴于液面上，转动试管 2～3 转，使这些液体更好地接触，但切忌使液体互相混合。然后将试管垂直静置 2min 再观察液面间颜色。同时用鲜乳做空白对照试验。掺碱量与颜色深浅的半定量对应关系见表 8-11。

表 8-11　乳中掺碱量显色对照表

掺碱量/%	无	0.05	0.1	0.3	0.5	0.7	1.0	1.5
颜色	黄色	浅绿色	绿色	深绿色	青绿色	淡蓝色	蓝色	深蓝色

（3）掺入豆浆的检测　取被检乳样 10mL 于试管中，加入 0.5mL 碘溶液，混匀，观察颜色变化，同时做空白对照试验。牛乳呈现浅污绿色者为阳性（＋），即为掺入豆浆；呈橙黄色者为阴性（－），即为正常乳。

（4）乳中掺甲醛的检测　吸取 2mL 硫酸和硝酸混合液注入试管内，仔细缓慢地沿着试管壁加入 5mL 乳样，注意防止乳与酸混合，要使乳与酸分成两层。经过 1～2min 后在乳与酸交接面处如产生紫色环，说明有甲醛存在（不含甲醛的牛乳在交接面处呈淡黄褐色）。当甲醛含量极少时需要经过 0.5～1h 后才出现。

（5）乳中加入盐的检测　取 5mL 硝酸银溶液于试管中，再加 2 滴 10%铬酸钾溶液，混匀（呈红色），取被检乳 1mL 注入试管中，充分混匀。如果红色消失，溶液变为黄色，说明乳中含氯量 0.14%以上，折合氯化钠量为 0.23%以上，则此乳为异常乳。若红色不变，则说明氯的含量低于指标，为正常乳。

九、抗生素的检验

1. 实验步骤

① 检验程序。抗生素残留的检验程序如图 8-5 所示。

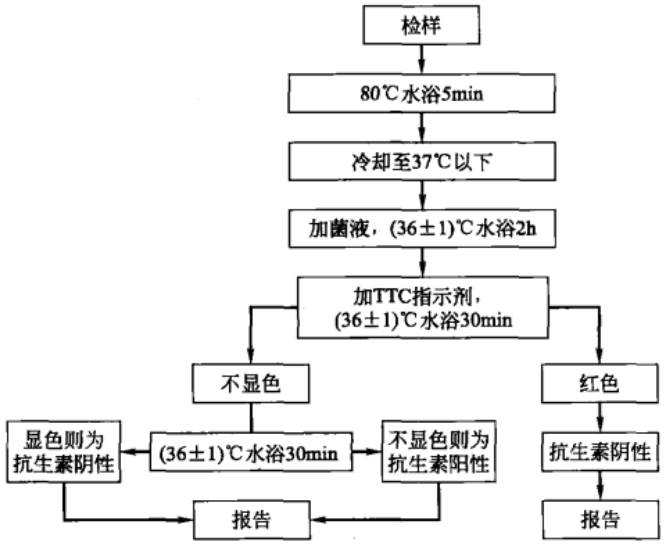


图 8-5　抗生素残留的检验程序

② 菌液制备。将嗜热乳酸链球菌接种入灭菌脱脂乳。置于（36±1)℃培养箱中保温 15h，然后再用灭菌脱脂乳以 1∶1 比例稀释备用。

③ 取乳样 9mL 放入试管中。

④ 置 80℃水浴中保温 5min。冷却至 37℃以下。

⑤ 加入菌液 1mL。

⑥ 置 36℃水浴锅中保温 2h。

⑦ 加入 4%TTC 指示剂 0.3mL。

⑧ 置 36℃水浴中保温 30min。

⑨ 观察牛乳颜色的变化。

2. 结果判定

加入 TTC 指示剂并于水浴中保温 30min 后，如检样呈红色反应，说明无抗生素残留，即报告结果为阴性；如检样不显色，再继续保温 30min 作第二次观察，如仍不显色，则说明有抗生素残留，即报告结果为阳性，反之则为阴性。显色状态判断标准见表 8-12，各种抗生素检测灵敏度见表 8-13。

表 8-12 显色状态判断标准

显色状态	判断
未显色者	阳性
微红色者	可疑
桃红色或红色	阴性

表 8-13 检测各种抗生素的灵敏度

抗生素名称	最低检出限	抗生素名称	最低检出限
青霉素	0.004 单位	庆大霉素	0.4 单位
链霉素	0.5 单位	卡那霉素	5 单位

十、实验结果

见表 8-14。

表 8-14 鲜牛乳质量检验结果

项目	检验结果	项目	检验结果
感官检验		酸度	
密度/比重		掺假、掺杂	
乳脂肪		抗生素检测	

十一、思考题

1. 乳比重和乳密度的关系是什么？
2. 为什么一般不用乳的氢离子浓度表示乳的酸度？
3. TTC 法测乳抗生素残留的优缺点有哪些？
4. 乳的其他掺假形式还有哪些？

实验六 PCR 技术在食品安全检测中的应用实验

一、实验目的

1. 掌握 PCR 仪的使用方法。
2. 掌握 PCR 快速鉴定肉的种类的基本原理。

二、实验原理

由于卫星 DNA 具有种属特异性，且相对保守，因此，可利用该特异性进行特异性引物设计。聚合酶链式反应（polymerase chain reaction，PCR）是体外酶促合成特异 DNA 片段的一

种方法，是模拟体内 DNA 复制反应，通过与特定 DNA 区域两端互补的寡核苷酸引物在体外由 DNA 聚合酶选择性地复制合成介于两引物之间的 DNA。典型的 PCR 包括变性-退火-延伸三个基本反应。

（1）模板 DNA 的变性（denaturation） 模板 DNA 经加热至 93℃左右一定时间后，使模板 DNA 双链或经 PCR 扩增形成的双链 DNA 解离，使之成为单链，以便它与引物结合，为下轮反应作准备。

（2）模板 DNA 与引物的退火（复性）（annealing） 模板 DNA 经加热变性成单链后，温度降至 55℃左右，引物与模板 DNA 单链的互补序列配对结合。

（3）引物的延伸（extension） DNA 模板-引物结合物在 *Taq* DNA 聚合酶的作用下，以 dNTP 为反应原料，靶序列为模板，按碱基配对与半保留复制原理，合成一条新的与模板 DNA 链互补的半保留复制链。重复循环变性-退火-延伸三过程，就可获得更多的“半保留复制链”，而且这种新链又可成为下次循环的模板。每完成一个循环需 2～4min，经过25～30 个循环后 DNA 可扩增 10^6～10^9 倍。到达平台期（plateau）所需循环次数取决于样品中模板的拷贝。

三、实验材料与仪器

1. 样品

不同种类的肉。

2. 仪器

PCR 仪，高速冷冻离心机，水平电泳槽，电泳仪，凝胶成像或紫外箱。

3. 器材

PCR 管，移液器，封口膜，枪头等。

4. 试剂

① *Taq* 酶，dNTP，DNA Marker，RNaseA，蛋白酶 K。

② 引物（猪、牛、羊引物）。

③ 溴化乙锭，琼脂糖，无菌水，乙醚。

④ 3mol/L NaAc，5mol/L NaCl，10% SDS，酚-氯仿-异戊醇（25∶24∶1）。

⑤ 分离缓冲液：10mmol/L Tris-HCl pH7.4，10mmol/L NaCl，25mmol/L EDTA。

⑥ TE：10mmol/L Tris-HCl（pH7.4～8.0，25℃），1mmol/L EDTA（pH8.0）。

⑦ TAE（50×）：Tris 24.2g，Na_2 EDTA·$2H_2O$ 3.72g，加 80mL 水，充分搅拌溶解，加 5.76mL 冰醋酸，搅拌均匀，定容至 100mL，室温长期保存。

⑧ 动物组织 DNA 提取试剂盒。

四、实验步骤

1. 从动物组织提取基因组 DNA（模板的制备）

① 切取组织 5g 左右，剔除结缔组织，以吸水纸吸干血液，剪碎放入研钵（越细越好）。

② 倒入液氮，磨成粉末，加 10mL 分离缓冲液。

③ 加 1mL 10% SDS，混匀，此时样品变得很黏稠。

④ 加 50μL 或 1mg 蛋白酶 K，37℃保温 1～2h，直到组织完全解体。

⑤ 加 1mL 5mol/L NaCl，混匀，5000r/min 离心 1min。

⑥ 取上清液于新离心管，用等体积酚-氯仿-异戊醇（25∶24∶1）抽提。待分层后，3000r/min 离心 5min。

⑦ 取上层水相至干净离心管，加 2 倍体积乙醚抽提（在通风情况下操作）。

⑧ 移去上层乙醚，保留下层水相。

⑨ 加 1/10 体积 3mol/L NaAc 以及 2 倍体积无水乙醇颠倒混合沉淀 DNA。室温下静置 10～20min，DNA 沉淀形成白色絮状物。

⑩ 用枪头钩出 DNA 沉淀，70%乙醇中漂洗后，在吸水纸上吸干，溶解于 1mL TE 中，－20℃保存。

⑪ 如果 DNA 溶液中有不溶解颗粒，可在 5000r/min 短暂离心，取上清，如要除去其中的 RNA，可加 5μL RNaseA（10μg/μL），37℃保温 30min，用酚抽提后，按步骤⑨～⑩重沉淀 DNA。

注：也可用 DNA 提取试剂盒提取 DNA。

2. PCR 鉴定（牛肉）

（1）引物　上游引物为 5′-TGTACGAAGAAATGTGCGG-3′；

下游引物　5′-TCAATGCAAAGGACAAGCCTGC-3′。

（2）PCR 条件　94℃预变性 6min、94℃变性 40s、54℃退火 50s、72℃延伸 60s，30～35 个循环后 72℃保温延伸 5min。

（3）PCR 体系　25μL（扩增长度 218bp），见表 8-15。

表 8-15　PCR 体系　　单位：μL

水	15.5
模板	1
上游引物	1.5
下游引物	1.5
dNTP	2
缓冲液(buffer)	2.5
Taq 酶	1

将 PCR 管做好标记后，在冰盒上，按表 8-15 中 PCR 体系加入各组分（同时设阴性对照和阳性对照）。混合均匀，瞬时离心后，将装有样品的 PCR 管移到达 102℃温度 PCR 仪中防止蒸发，进行 PCR 扩增（观察一个循环）。

3. 电泳

将经过 PCR 扩增后的各管样品分别上样 5～10μL。50V 电压下电泳 20～30min，在紫外灯下观察结果，并记录。

五、实验结果

1. 记录各管样品电泳图谱。
2. 分析图谱，撰写 PCR 鉴定肉种类结论。

六、注意事项

1. 此实验中的所有容器、器械应是高压消毒过的。
2. 在制备模板时，各容器不能重复利用，防止因样品被污染导致假阳性出现。
3. 在进行 PCR 前，先将 PCR 管标记清楚或记录 PCR 管上标号，防止加错样品。
4. 在向 PCR 管中加样时，注意及时更换枪头。
5. 溴化乙锭致癌，操作时电泳涉及器材均应引起注意，防止污染人体。

七、思考题

1. PCR 鉴定肉种类的原理是什么？
2. 可否自己设计引物进行肉种类的鉴定？
3. 肉种类鉴定的意义是什么？
4. 目前常用的肉种类鉴定的方法和标准是什么？

第九章　食品毒理学实验指导

实验一　实验动物的一般操作技术

一、实验目的

通过学习有关的基本操作技术，掌握实验动物的选择、动物抓取、染毒、麻醉方法和生物材料的采集等技术。

二、实验内容

1. 健康动物的选择

健康动物检查时要求达到：外观体形丰满，被毛浓密有光泽、紧贴体表，眼睛明亮，行动迅速，反应灵活，食欲及营养状况良好。选择时重点检查以下项目：

（1）眼睛　明亮，瞳孔双侧等圆，无分泌物。

（2）耳　耳道无分泌物溢出，耳壳无脓疮。

（3）鼻　无喷嚏，无浆性黏液分泌物。

（4）皮肤　无创伤，无脓疮、疥癣、湿疹。

（5）颈部　要求颈项端正，如有歪斜提示可能存在内耳疾患。

（6）消化道　无呕吐、腹泻，粪便成形，肛门附近被毛洁净。

（7）神经系统　无震颤、麻痹。若动物（大鼠、小鼠）出现圆圈动作或提尾倒置呈圆圈摆动，应放弃该动物。

（8）四肢及尾　四肢、趾及尾无红肿及溃疡。

2. 实验动物的性别鉴定

一般情况下，哺乳类动物性别依据动物的肛门与外生殖器（阴茎或阴道）之间的距离加以区分，雄性要比雌性的距离更长。大鼠、小鼠、沙鼠可用肛门-生殖器间距离加以区分：成年大、小鼠性别极易区别。雌性生殖器与肛门之间有一无毛小沟，距离较近。雄性可见明显的阴囊，生殖器突起较雌鼠大，肛门和生殖器之间长毛。幼年鼠则主要靠肛门与生殖器的距离远近来判别：近的为雌性，远的为雄性。但这种方法对豚鼠和地鼠则用处不大。豚鼠和地鼠用手压着会阴部，雄鼠有阴茎突起，雌鼠则无，可见阴道口呈“V”形（图 9-1）。

3. 实验动物的抓取和固定

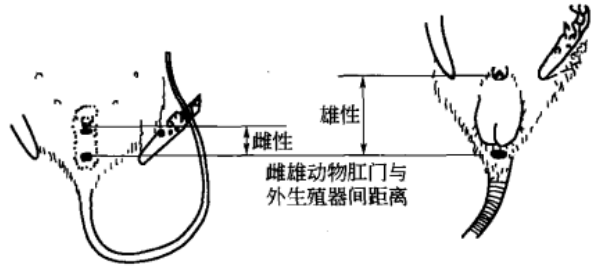


图 9-1　大小鼠性别鉴定

在进行实验时，为了不损伤动物的健康，不影响观察指标，并防止被动物咬伤，首先要限制动物的活动，使动物处于安静状态，工作人员必须掌握合理的抓取固定方法。抓取动物前，必须对各种动物的一般习性有所了解。操作时要小心仔细、大胆敏捷、熟练准确，不能粗暴，不能恐吓动物，同时，要爱惜动物，使动物少受痛苦。

（1）小鼠　通常用右手提起小鼠尾巴将其放在鼠笼盖或其他粗糙表面上，在小鼠向前挣扎爬行时，用左手拇指和食指捏住其双耳及颈部皮肤，将小鼠置于左手掌心、无名指和小指夹其背部皮肤和尾部，即可将小鼠完全固定。在一些特殊的实验中，如进行尾静脉注射时，可使用特殊的固定装置进行固定，如尾静脉注射架或粗的玻璃试管（图 9-2）。

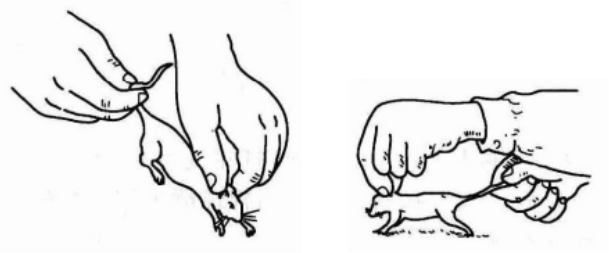


图 9-2　小鼠抓取方法

（2）大鼠　大鼠的门齿很长，在抓取方法不当而受到惊吓或激怒时易将操作者手指咬伤，所以，不要突然袭击式地去抓它，取用时应轻轻抓住其尾巴后提起，置于实验台上，用玻璃钟罩扣住或置于大鼠固定盒内，这样即可进行尾静脉取血或注射。如要作腹腔注射或灌胃等操作时，实验者应戴上棉纱手套（有经验者也可不戴），右手轻轻抓住大鼠的尾巴向后拉，但要避免抓其尖端，以防尾巴尖端皮肤脱落，左手抓紧鼠两耳和头颈部的皮肤，并将大鼠固定在左手中，右手即可进行操作（图 9-3）。



图 9-3　大鼠抓取方法

（3）豚鼠　豚鼠性情温顺不咬人，可用左手直接从背侧握持前部躯干，体重小者用一只手捉持，体重大者宜用双手，右手托住臀部（图 9-4）。

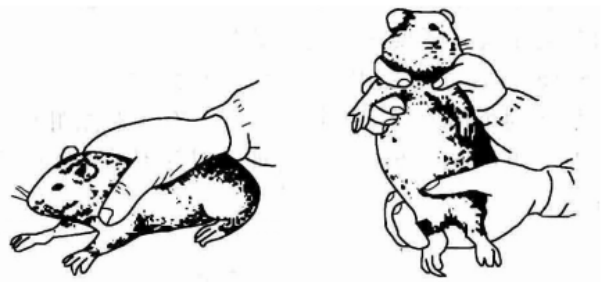
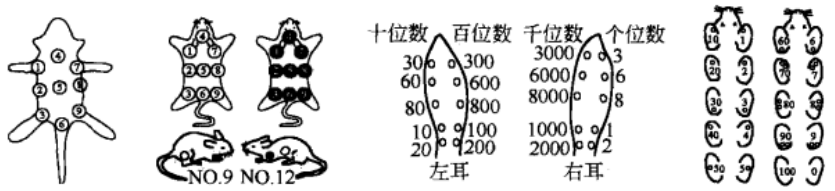


图 9-4　豚鼠抓取方法

4. 实验动物的编号和分组

（1）编号　实验动物常需要标记以示区别。编号的方法（图 9-5）很多，可根据动物的种



(a) 1-9 号编号　(b) 1-99 号编号　(c) 打孔编号法　(d) 剪口编号法

图 9-5　实验动物编号方法

类、数量和观察时间长短等因素来选择合适的标记方法。

① 挂牌法。将号码烙压在圆形或方形金属牌上（最好用铝或不锈钢的，可长期使用不生锈），或将号码按实验分组编号烙在栓动物颈部的皮带上，将此颈圈固定在动物颈部。该法适用于狗等大型动物。

② 打号法。用刺数钳（又称耳号钳）将号码打在动物耳朵上。打号前用蘸有酒精的棉球擦净耳朵，用耳号钳刺上号码，然后在烙印部位用棉球蘸上溶在食醋里的黑墨水擦抹。该法适用于耳朵比较大的兔、狗等动物。

③ 针刺法。用七号或八号针头蘸取少量碳素墨水，在耳部、前后肢以及尾部等处刺入皮下，在受刺部位留有一黑色标记。该法适用于大小鼠、豚鼠等。在实验动物数量少的情况下，也可用于兔、狗等动物。

④ 化学药品涂染动物被毛法。经常应用的涂染化学药品有涂染红色：0.5%中性红或品红溶液，涂染黄色：3%～5%苦味酸溶液；涂染黑色：煤焦油的酒精溶液。

根据实验分组编号的需要，用一种化学药品涂染实验动物背部被毛即可。如果实验动物数量较多，则可以选择两种染料。

⑤ 剪毛法。该法适用于大、中型动物，如狗、兔等。方法是用剪毛刀在动物一侧或背部剪出号码，此法编号清楚可靠，但只适于短期观察。

⑥ 打孔或剪缺口法。可用打孔机在兔耳一定位置打一小孔来表示一定的号码。如用剪子剪缺口，应在剪后用滑石粉捻一下，以免愈合后看不出来。该法可以编至 1～ 9999 号，此种方法常在饲养大量动物时作为终身号采用。

（2）分组

① 分组的原则。动物分组应按随机分配的原则，使每只动物都有同等机会被分配到各个实验组与对照组中去，以避免各组之间的差别，影响实验结果，特别是进行准确的统计检验，必须在随机分组的基础上进行。

每组动物数量应按实验周期长短、实验类型及统计学要求而定。如果是慢性实验或需要定期处死动物进行检验的实验，就要求选较多的动物，以补足动物自然死亡和人为处死所丧失的数量，确保实验结束时有合乎统计学要求的动物数量存在。

② 建立对照组。分组时应建立对照组。包括自身对照组和平行对照组，前者是指实验数据而言。此法可排除生物间的个体差异。平行对照组：有正对照组和负对照组两种。给实验组动物某种处理，而给正对照组用同样方法进行处理，但并不采用实验所要求的药物或手段，负对照组则不给任何处理。

5. 实验动物染毒

在动物实验中，为了观察药物对机体功能、代谢及形态引起的变化，常需要将药物注入动物体内。染毒的途径和方法多种多样，可根据实验目的、实验动物种类和药物剂型、剂量等情况确定。

（1）注射染毒法

① 皮下注射。注射时用左手拇指及食指轻轻捏起皮肤，右手持注射器将针头刺入，固定后即可进行注射。一般小鼠在背部或前肢腋下，大鼠在背部或侧下腹部；豚鼠在后大腿内侧、背部等脂肪少的部位；兔在背部或耳根部注射；蛙可在脊背部淋巴囊注射；狗多在大腿外侧注射，拔针时，轻按针孔片刻，防药液溢出（图 9-6）。

② 皮内注射。将动物注射部位的毛剪去，消毒后，用皮试针头紧贴皮肤皮层刺入皮内，然后使针头向上挑起并再稍刺入，即可注射药液。注射后可见皮肤表面鼓起一白色小皮丘。

③ 肌内注射。当给动物注射不溶于水而混悬于油或其他溶剂中的药物时，常采用肌内注射。肌内注射一般选用肌肉发达、无大血管经过的部位，多选臀部。注射时针头要垂直快速刺入肌肉，如无回血现象即可注射。给大、小鼠作肌内注射时，选大腿外侧肌肉进行注射（图 9-7）。

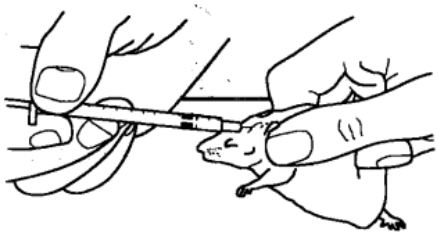


图 9-6　皮下注射方法



图 9-7　肌内注射方法

④ 腹腔注射。先将动物固定，腹部用酒精棉球擦拭消毒，然后在左或右侧腹部将针头刺入皮下，沿皮下向前推进约 0.5cm，再使针头与皮肤呈 45°角方向穿过腹肌刺入腹腔，此时有落空感，回抽无肠液、尿液后，缓缓推入药液。此法大小鼠用得较多（图 9-8）。

⑤ 静脉注射。此是将药液直接注射于静脉管内，使其随着血液分布全身，迅速奏效。但排泄较快，作用时间较短。

a. 小鼠、大鼠的静脉注射：常采用尾静脉注射。鼠尾静脉共有 3 根，左右两侧和背侧各 1 根，两侧尾静脉比较容易固定，故常被采用。操作时，先将动物固定在暴露尾部的固定器内（可用烧杯、铁丝罩或粗试管等物代替），用 75%酒精棉球反复擦拭使血管扩张，并可使表皮角质软化，以左手拇指和食指捏住鼠尾两侧，使静脉充盈，注射时针头尽量采取与尾部平行的角度进针。开始注射时宜少量缓注，如无阻力，表示针头已进入静脉，这时用左手指将针和尾一起固定起来，解除对尾根部的压迫后，便可进行注射。如有白色皮丘出现，说明未穿刺入血管，应重新向尾部方向移动针头再次穿刺。注射完毕后把尾部向注射侧弯曲以止血。如需反复注射，尽量从尾的末端开始。一次的注射量为每 10g 体重 0.1～0.2mL（图 9-9）。

b. 豚鼠的静脉注射：一般采用后肢外侧跖静脉。豚鼠的静脉管壁较脆，注射时应特别



图 9-8　腹腔注射方法

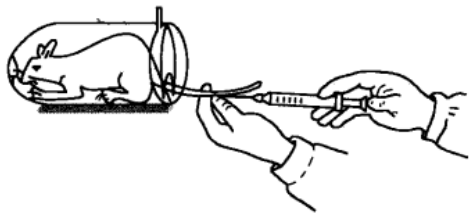


图 9-9　尾静脉注射方法

注意。

c. 兔的静脉注射：一般采用外耳缘静脉，因其表浅易固定。注射部位除毛，用75%的酒精消毒，手指轻弹兔耳，使静脉充盈，左手食指和中指夹住静脉的近心端，拇指绷紧静脉的远心端，无名指及小指垫在下面，右手持注射器，尽量从静脉的远端刺入血管，移动拇指于针头上以固定，放开食指、中指，将药液注入，然后拔出针头，用手压迫针眼片刻以止血（图9-10）。

d. 狗的静脉注射：狗的静脉注射多采用前肢外侧静脉或后肢外侧的小隐静脉。注射部位除毛后，在静脉血管的近心端用橡皮带扎紧，使血管充盈，从静脉的远心端将注射针头平行血管刺入，回抽注射器针栓，如有回血，即可放开橡皮带，将药液缓缓注入（图9-11）。

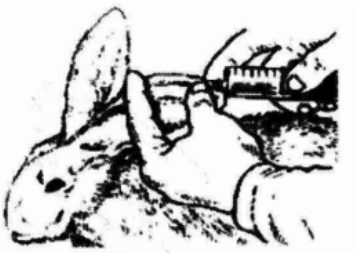


图9-10　耳缘静脉注射方法



图9-11　小隐静脉注射方法

（2）经口染毒法

① 口服法。把药物放入饲料或溶于饮水中让动物自由摄取。此法优点在于简单方便，缺点是不能保证剂量准确。一般适用于对动物疾病的防治或某些药物的毒性实验，制造某些与食物有关的人类疾病动物模型。

② 灌胃法。在急性实验中，多采用灌胃法。此法剂量准确。灌胃法是用灌胃器将所应投给动物的药灌到动物胃内。灌胃器由注射器和特殊的灌胃针构成。小鼠的灌胃针长约4～5cm，直径为1mm，大鼠的灌胃针长约6～8cm，直径约1.2mm。灌胃针的尖端焊有一小圆金属球，金属球为中空。焊金属球的目的是防止针头刺入气管或损伤消化道。针头金属球端弯曲成20°左右的角度，以适应口腔、食道的生理弯曲度走向。

鼠类的灌胃法：用左手固定鼠，右手持灌胃器，将灌胃针从鼠的口腔插入，压迫鼠的头部，使口腔与食道成一直线，将灌胃针沿咽后壁慢慢插入食道，可感到轻微的阻力，此时可略改变一下灌胃针方向，以刺激引起吞咽动作，顺势将药液注入。一般灌胃针插入小鼠深度为3～4cm，大鼠或豚鼠为4～6cm。常用灌胃量小鼠为0.2～1mL，大鼠1～4mL，豚鼠1～5mL（图9-12）。

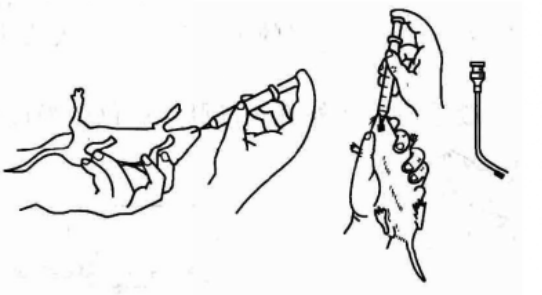


图9-12　鼠类的灌胃法

6. 实验动物的处死

当实验中途停止或结束时，实验者应站在实验动物的立场上以人道的原则去处置动物，原

则上不给实验动物任何恐怖和痛苦。

(1) 大鼠和小鼠

① 颈椎脱臼法。右手抓住鼠尾用力向后拉，同时左手拇指与食指用力向下按住鼠头。将脊髓与脑髓拉断，鼠便立即死亡。

② 断头法。用剪刀在鼠颈部将鼠头剪掉，鼠立即死亡。

③ 击打法。右手抓住鼠尾，提起，用力摔击其头部，鼠痉挛后立即死去。或用木锤用力击打鼠头部也可致死。

④ 急性大出血法。可采用鼠眼眶动脉和静脉急性大量失血方法使鼠立即死亡。

⑤ 药物致死法。吸入一定量的一氧化碳、乙醚、氯仿等均可使动物致死。

(2) 狗、兔、豚鼠

① 空气栓塞法。向动物静脉内注入一定量的空气，使之发生栓塞而死。当空气注入静脉后，可在右心室随着心脏的跳动使空气与血液呈泡沫状，随血液循环到全身。如进到肺动脉，可阻塞其分支，进入心脏冠状动脉，造成冠状动脉阻塞，发生严重的血液循环障碍，动物很快致死。一般兔、猫等静脉内注入 20～40mL 空气即可致死。每条狗由前肢或后肢皮下静脉注入 80～150mL 空气，可很快致死。

② 急性失血法。先使动物轻度麻醉，如狗可按每千克体重静脉注射硫喷妥钠 20～30mg，动物即很快入睡。暴露股三角区，用锋利的杀狗刀在股三角区作一个约 10cm 的横切口，把股动、静脉全切断，立即喷出血液。用一块湿纱布不断擦去股动脉切口周围处的血液和血凝块，同时不断地用自来水冲洗流血，使股动脉切口保持畅通，动物在 3～5min 内即可致死。采用此种方法，动物十分安静，对脏器无损伤，对活杀采集病理切片标本是一种较好的方法。

如果处死狗的同时要采集其血液时，则在用硫喷妥钠轻度麻醉后，将狗固定在狗手术台上。分离颈动脉，插一根较粗的塑料管，放低狗头，打开动脉夹，使动脉血流入装有抗凝血的容器内，并不断摇晃，以防血液凝固。

三、注意事项

1. 抓取动物切忌粗暴，要掌握抓取要领，防止咬伤。
2. 灌胃要掌握正确的角度，切忌粗暴。
3. 断髓处死要掌握正确的角度。

四、思考题

1. 如何对实验动物进行性别鉴定？
2. 灌胃染毒对动物有何要求？
3. 为什么要设立对照组？

实验二　经口急性毒性实验

一、实验目的

观察外源化学物对小鼠的急性毒性作用。

二、实验原理

灌胃是给予实验动物一定剂量的某一化学物引起毒效应发生，甚至死亡。了解动物所产生

的急性毒性反应及其严重程度，中毒死亡的特征以及可能的死亡原因，观察受试物毒性反应与剂量的关系，求出半数致死剂量，将受试物进行急性毒性分级。

三、实验材料与仪器

1. 器材

50mL 量筒，100mL 小烧杯，酒精棉，500mL 塑料蒸馏水瓶，灌胃器。

2. 试剂

硫酸铜，蒸馏水。

四、实验设计

1. 动物选择

一般采用 6～8 周龄的雄性小鼠，体重 18～25g。

2. 剂量和分组

应根据半数致死量（LD_{50}）的计算方法设计受试物剂量并分组。在进行剂量设计之前，首先要了解受试外源化学物的结构式、分子量、常温常压下的状态（液态、固态或气态）、生产批号、纯度、杂质成分与含量、溶解度、挥发度、pH 值（可测时）等。然后根据该受试物有关的测试规范要求，决定实验设计。先根据预试验找出受试物的毒性范围，再按不同 LD_{50} 计算方法的要求，以一定的比例设定正式试验的剂量，并同时设阳性和阴性对照组。受试物高剂量组的剂量应能使部分动物死亡，中、低剂量组不应出现动物死亡。

阴性对照使用等体积的溶剂。

五、实验步骤

1. 染毒

选择合适的剂量进行染毒实验。

2. 观察

染毒后立即观察。观察实验动物的中毒症状，注意观察记录发生每种症状的时间、症状表现程度、各症状发展的过程及死亡前特征和死亡时间。

对中毒死亡的实验动物应及时解剖作大体尸检，观察各器官有无充血、出血、水肿或其他改变，必要时对肉眼观察有变化的脏器进行组织病理学检查。实验结束时存活与对照组的动物也应作病理学检查。对死亡动物的大体尸检或组织病理学检查有时可得到有价值的资料。

六、实验结果

1. LD_{50} 计算。

2. 依据实验动物中毒症状、死亡时间、LD_{50}，初步判断该受试化合物的毒性大小及毒性特征。

七、注意事项

1. 正确捉拿动物，且防止咬伤。

2. 防止操作者中毒。

八、思考题

1. LD_{50} 的意义是什么？

2. LD_{50} 计算方法的选择依据是什么？

实验三　小鼠精子畸形实验

一、实验目的

学习观察小鼠精子畸形的实验方法。

二、实验原理

精子畸形是指精子的形状异常。在正常情况下，人与其他哺乳动物的精液中也有少量畸形精子，即有一定的精子畸形率本底值。在某些生殖毒物的作用下，尤其是在可导致生殖细胞遗传性损伤的毒物作用下，人和其他哺乳动物睾丸产生的畸形精子数量可大大增加。因此，雄性动物受化合物处理后，检查其精子畸形率的高低，可以作为评价外来化合物生殖毒性和诱变性的指标之一。

关于精子畸形的机理尚未完全清楚，精子的成熟和正常形态发生过程受多种基因控制。当这些基因中的任一个在化合物的作用下发生突变，就会导致精子的畸形率增高。某些特殊的染色体重排，如性-常染色体易位，是化合物诱发精子发生畸形率增高的主要机理。但是公认精子畸形率增高，并非必然意味着是受试物诱发突变的结果，某些其他因素如缺血、变态反应、感染和体温增高等亦可能导致精子畸形率增高。

三、实验材料与仪器

1. 器材

眼科手术剪，眼科镊，玻璃平皿，光学显微镜，吸管及橡皮头，载玻片，擦镜纸，离心机(1000r/min)，10mL 离心管，小漏斗，酒精棉，100mL 染缸，记号笔，500mL 塑料蒸馏水瓶，试管架，晾片架。

2. 试剂

环磷酰胺，生理盐水，1%～2%伊红，蒸馏水，10%甲醇。

四、实验设计

1. 动物选择

一般采用 6～8 周龄的雄性小鼠，因其较为经济，而且已有许多实验证实，在该实验系统中小鼠最为敏感，且每组应保证至少有 5 只存活动物。

2. 剂量和分组

受试物至少设三个剂量组，并同时设阳性和阴性对照组。受试物高剂量组的总剂量应能使部分动物死亡，一般可取$\frac{1}{2}LD_{50}$，然后以 1/4 或 1/8 作为中、低剂量组。

阳性对照可给予甲基磺酸乙酯 60mg/(kg·d) 或甲基磺酸甲酯 75mg/(kg·d) 或环磷酰胺 20mg/(kg·d)，腹腔注射，连续 5d，每天一次。阴性对照使用等体积的溶剂。

五、实验步骤

1. 染毒和处死

受试物多用腹腔注射，也可采用与人实际接触相同的其他途径给药。可每天一次，连续 5d 给药。可在给药后 2 周、4 周一次处死动物。也可在给药后 1 周、4 周、10 周分三批处死，或在给药后每周处死一批动物，连续进行动态观察，直到精子形态恢复正常。

2. 制片

以颈椎脱臼法处死小鼠，摘取双侧附睾置于约 1mL 磷酸盐缓冲生理盐水（8g NaCl，0.2g KCl，0.12g KH_2PO_4，0.91g Na_2HPO_4 加水至 1L）中剪碎，静置 3～5min，吸取此精子悬液（注意吸取时尽量避开组织碎块）滴于清洁玻片上，作均匀推片，后用无水乙醇固定 5min，干燥后镜检计数，亦可用 2%伊红水溶液染色后再作镜检。

六、实验结果

1. 结果判定条件

受试物各剂量组应分别与阴性对照组进行比较。判断一种化合物是否为精子畸形诱变剂的条件是：至少在两个相邻的剂量组精子畸形率显著增高，即与阴性对照组比较 $P<0.01$，或比阴性对照组增加一倍以上。如达到致死剂量而精子畸形率未见显著增高，则可判断为阴性。因此，分析本试验的阳性结果时要慎重。一般说来，阳性结果只能直接说明精子发生过程受到干扰或损害，而间接推断其原因可能与遗传物质的改变有关。但精子畸形的阳性诱变剂与生殖细胞诱变剂并不完全等同，故必须结合其他诱变试验的结果综合考虑。

2. 结果评价方法

不同品系小鼠的精子畸形率本底值有较大差异，其影响因素也较多，故实验结果的判断应与相同实验条件下同时进行的阴性对照组比较，且阴性对照组的精子畸形率应与本实验室过去的记录接近，而阳性对照组精子畸形率必须显著高于阴性对照组（$P<0.01$），否则所得结果不可靠，应重做。

3. 实验结果分析

见表 9-1。

表 9-1　受试小鼠精子畸形情况

项目	阳性对照	阴性对照	低剂量组	中剂量组	高剂量组
精子畸形率/%					

七、注意事项

1. 如将精子悬液经过滤、离心等步骤除去组织残渣后再推片效果更好。但这将使制片过

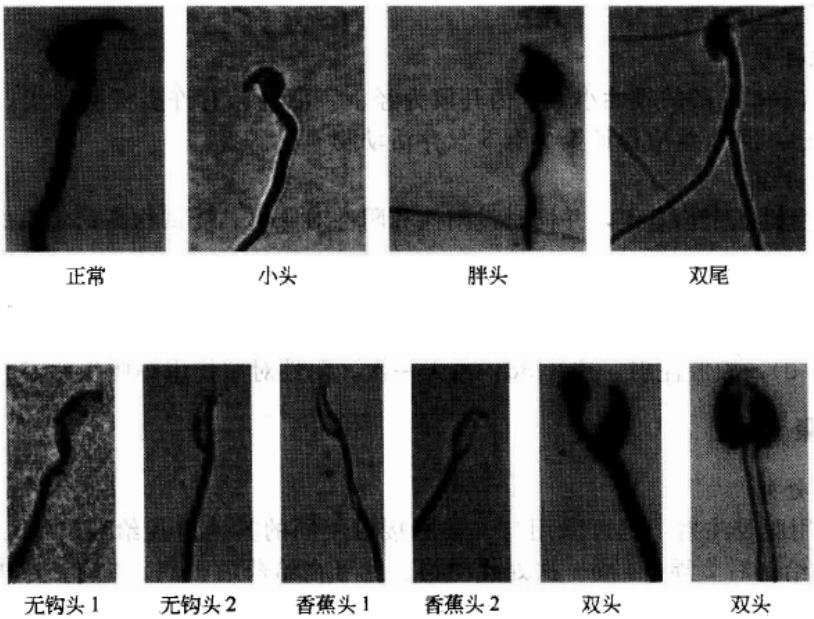


图 9-13　常见的小鼠精子畸形的类型

程复杂化，而且容易造成人为误差。

2. 不同的诱变剂作用于生精细胞的不同发育阶段，因而在接触不同化合物后畸形精子增多的时间也不同。通常是处于精母细胞阶段的生精细胞对化学诱变剂较敏感，故在接触化合物染毒后 3～5 周时精子畸形率最高，若能给予受试物后做动态观察则有助于全面评价其毒性。

3. 注意由于某些因素如缺血、感染、体温变化等产生的假阳性结果。

4. 镜检时注意鉴别制片过程中人为造成的精子损伤。在判断多头、双头、双尾及多尾畸形时，应注意鉴别由于精子重叠和交叉造成的假象，如图 9-13 为常见的精子形态图，包括正常的以及畸形的。

八、思考题

1. 精子畸形有哪些类型？
2. 精子畸形实验对实验动物有何要求？
3. 为何实验的取材时间大多在染毒结束后第 4 周？

实验四　小鼠骨髓细胞染色体畸变实验

一、实验目的

学习整体动物染毒的体内体细胞染色体畸变分析实验方法。

二、实验原理

染色体畸变分析是一种检测外来化合物遗传毒性的方法。染色体畸变只能在细胞分裂的中期相进行观察和分析。在取样之前，要用秋水仙碱进行预处理，以阻断构成微管的主要蛋白质即微管蛋白的聚合，从而抑制细胞分裂时纺锤体的形成，使处于分裂间期和前期的细胞停留在中期，对已处于中期及后期的细胞无影响。借此可以增加处于中期分裂相的细胞数，为染色体分析提供统计学上所需要的足够大的样本。取样后，要进行低渗处理，使细胞膨胀，染色体均匀地散开，然后固定、染色，在显微镜下进行观察分析。

三、实验材料与仪器

1. 器材

手术器械，10mL 离心管，离心机（1000～1500r/min），滴管带吸头，载玻片，水浴箱，带油镜头生物显微镜（100×物镜），注射器 1mL，纱布，记号笔，试管架，10mL 离心管，晾片架，酒精灯，50mL 锥形瓶，滤纸，50mL 量筒。

2. 试剂

环磷酰胺，秋水仙碱，生理盐水，蒸馏水，KH_2PO_4，NaH_2PO_4，乙酸，甲醇，Giemsa 染液，KCl。

四、实验设计

1. 动物选择

一般采用初成年动物，每个剂量组可用 6 只动物，最好用 8 只动物，雌雄各半。

2. 剂量和分组

最大剂量可采用 30%～80% LD_{50}。一般设 3～5 个剂量组，剂量跨度在 10^2～10^3。阴性对照使用等体积溶剂。

五、实验步骤

1. 染毒和处死

受试物多用腹腔注射，也可采用与人实际接触相同的其他途径给药。预先染毒 24h，处死动物前 2～4h，腹腔注射秋水仙碱，剂量为小鼠 4mg/kg，采用颈椎脱位法处死，立即取其双侧股骨，剔净肌肉，擦净血污后，剪开骨样，暴露骨髓腔，置于 5mL 生理盐水中。用细口吸管轻轻吹打，将骨髓充分洗入生理盐水中，以 1500r/min 离心 10min，弃去上清。

2. 低渗

加入 37℃的 0.075mol/L 的 KCl 约 6mL，37℃低渗处理 20min，再加入固定液 1mL 预固定 1min，1000r/min 离心 10min，弃上清。

3. 固定、制片、染色

加固定液使细胞重新悬浮，放置 10～20min 后，1000r/min 离心 10min，弃上清。同样方法再固定一次，弃大部分上清，留 0.55mL，滴在冰冻洁净玻片上，然后用 Giemsa 应用液染色 10～20min。用清水洗净浮色，干燥。

4. 阅片

①先在低倍镜下寻找分散良好、细胞未破裂、染色体收缩适中的中期分裂相细胞，来进行分析；②转到油镜下后，应排除处于细胞分裂后期的早期细胞，处于这个时期的细胞的染色单体已完全分开。

六、实验结果

以每只动物为观察单位，至少观察 100 个中期分裂相细胞，计算每只动物的畸变细胞率，分析结果如表 9-2 所示。将各处理组的畸变细胞率均值与阴性对照组相比较，以 t 检验测定其差异的显著性。当差异有显著性，且有剂量-反应关系时，即可判断受试物对该种动物的骨髓细胞有诱变作用。

表 9-2　受试小鼠骨髓细胞染色体畸变情况

项目	阳性对照	阴性对照	低剂量组	中剂量组	高剂量组
畸变细胞率/%					

七、注意事项

低渗是本实验的关键，控制好低渗的时间是关系到结果准确性的重点。

八、思考题

1. 秋水仙碱的作用机理是什么？
2. 为什么使用冰冻玻片？
3. 低渗的目的是什么？

实验五　小鼠骨髓细胞微核实验

一、实验目的

学习小鼠骨髓嗜多染红细胞（PCE）微核测定方法，了解环磷酰胺对骨髓细胞染色体的损

伤作用。

二、实验原理

微核是指细胞中主核之外的颗粒，染色与细胞核一致，相当于细胞直径的 1/20～1/5，呈圆形或杏仁状。微核是细胞内染色体断裂或纺锤丝受影响而在细胞有丝分裂时滞留在胞核外的遗传物质。因而，微核试验能检测化学或/和其他物质因素诱导产生的染色体完整性改变和染色体分离改变这两种遗传学终点。微核可出现于多种细胞，但在有核细胞中难于与正常核的分叶及核突出物区分，故常计数 PCE 细胞中的微核，因为红细胞在成熟之前最后一次分离后数小时将主核排出，但仍保留微核于 PCE 细胞中。

三、实验材料与仪器

1. 器材

手术器械，10mL 离心管，离心机（1000～1500r/min），滴管带吸头，载玻片，水浴箱，带油镜头生物显微镜（100×物镜），注射器 5mL，纱布，记号笔，试管架，10mL 离心管，晾片架，50mL 锥形瓶，滤纸，50mL 量筒。

2. 试剂

环磷酰胺，小牛血清，甲醇，Giemsa 染液，生理盐水。

四、实验设计

1. 动物选择

一般采用初成年动物，每个剂量组可用 6 只动物，最好用 8 只动物，雌雄各半。

2. 剂量和分组

最大剂量可采用 30%～80% LD_{50}。一般设 3～5 个剂量组，剂量跨度在 10^2～10^3。阴性对照使用等体积的溶剂。

五、实验步骤

1. 染毒和处死

受试物多用腹腔注射，也可采用与人实际接触相同的其他途径给药。预先染毒 24h，采用颈椎脱位法处死，将腹中线被毛浸湿。剖开胸腹部，取下胸骨剔去肌肉。将胸骨骨髓挤于有一滴小牛血清的载玻片上，推片。

2. 固定

将推好晾干的标本玻片放入染色缸中用甲醇溶液固定 15min，取出晾干。

3. 染色

用 Giemsa 应用液染色 10～20min。用清水洗净浮色，干燥。

4. 阅片

先在低倍镜下选择分布均匀、染色较好的区域，再在油镜下观察计数。PCE 细胞呈灰蓝色，正染红细胞（NCE）呈橘黄色。一个细胞内可出现一个或多个微核。计数 1000 个 PCE 中含有微核的 PCE 数，并且计数在 200 个细胞中 PCE 与 NCE 的比例。

六、实验结果

1. PCE 中微核计算（表 9-3）

2. 录入数据

对数据进行统计检验，如表 9-4。

表 9-3　受试小鼠骨髓细胞微核情况

项目	阳性对照	阴性对照	低剂量组	中剂量组	高剂量组
PCE 均值					

表 9-4　微核实验结果

项目	阳性对照组	阴性对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
比值					
P					

3. 雌雄之间无明显的性别差异时合并计算，否则应分别计算。

七、注意事项

1. 操作时推制良好的骨髓涂片及良好的染色，是本实验的关键步骤。
2. 熟悉并正确区分各种骨髓细胞。

八、思考题

1. 微核形成的机理是什么？
2. 利用 PCE 考察微核形成存在什么优势？

实验六　鼠伤寒沙门菌回复突变实验

一、实验目的

学习并掌握一种遗传毒理学体外试验方法——鼠伤寒沙门菌回复突变试验。

二、实验原理

鼠伤寒沙门菌的突变型（即组氨酸缺陷型）菌株在无组氨酸的培养基上不能生长，在有组氨酸的培养基上可以正常生长。致突变物可使沙门菌突变型回复突变为野生型（表现型），因而在无组氨酸培养基上也能生长。故可根据在无组氨酸的培养基上菌落生成数量，检查受试物是否为致突变物。对于间接致突变物，可用经多氯联苯（PCB）诱导的大鼠肝匀浆制备的 S9 混合液作为代谢活化系统。

三、实验材料与仪器

1. 器材

低温高速离心机，低温冰箱（－80℃）或液氮罐，洁净工作台，恒温培养箱，恒温水浴箱，蒸气压力锅，匀浆器等实验室常用设备。

2. 试剂

培养基成分或试剂除说明外，应是化学纯，无诱变性，避免重复高温处理，选择适当保存温度和期限。

3. 培养基制备

（1）营养肉汤培养基　牛肉膏 2.5g，胰胨（或混合蛋白胨）5.0g，氯化钠 2.5g，磷酸氢二钾 1.3g，加蒸馏水至 500mL。加热溶解，调 pH 至 7.4，分装后 0.103MPa 20min 灭菌，4℃保存备用。

(2) 营养肉汤琼脂培养基　用作基因型（rfa 突变，R 因子，PAQ1 质粒，UvrB）鉴定。琼脂粉 1.5g，营养肉汤培养基 100mL，加热融化后调 pH 为 7.4，0.103MPa 20min 灭菌。

(3) 底层培养基

① 磷酸盐贮备液（V-B 盐贮备液）。磷酸氢铵钠（$NaNH_4HPO_4$）17.5g，柠檬酸（$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$）10.0g，磷酸氢二钾（K_2HPO_4）50.0g，硫酸镁（$MgSO_4 \cdot 7H_2O$）1.0g，加蒸馏水至 100mL，0.103MPa 20min 灭菌，待其他试剂完全溶解后，再将硫酸镁缓慢加入其中继续溶解，否则局部析出沉淀。

② 40%葡萄糖溶液。葡萄糖 40.0g，加蒸馏水至 100mL，0.055MPa 灭菌。

③ 底层培养基（1.5%琼脂培养基）。琼脂粉 6.0g，蒸馏水 400mL，融化后 0.103MPa 20min 灭菌。趁热（80℃）在灭菌琼脂培养基中（400mL）依次无菌操作加入磷酸盐贮备液 8mL、40%葡萄糖溶液 20mL，充分混匀，待凉至 60℃左右时倒入平皿，每皿（内径 90mm）25mL，37℃培养过夜以除去水分及检查有无污染。

(4) 顶层培养基

① 顶层琼脂。琼脂粉 3.0g，氯化钠 2.5g，加蒸馏水至 500mL。

② 0.5mmol/L 组氨酸-生物素溶液（诱变试验用）。D-生物素（相对分子质量 244）30.5mg，L-组氨酸（相对分子质量 155）17.4mg，加蒸馏水至 250mL。

4. 鉴定菌株基因型用试剂

(1) 0.5mmol/L 组氨酸-生物素溶液（鉴定菌株用，无菌配制）。称取 L-盐酸组氨酸（相对分子质量 191.7）24mg，D-生物素（相对分子质量 247.3）30.9mg，加蒸馏水至 250mL，0.103MPa 20min 灭菌，保存于 4℃冰箱。

(2) 0.8%氨苄西林溶液（鉴定菌株用，无菌配制）。称取氨苄西林 40mg，用 0.02mol/L 氢氧化钠溶液 5mL 溶解，保存于 4℃冰箱。

(3) 0.8%四环素溶液（鉴定菌株用，无菌配制）。称取 40mg 四环素，用 0.02mol/L 盐酸 5mL 溶解，保存于 4℃冰箱。

(4) 0.1%甲紫溶液（鉴定菌株用）。称取甲紫 10mg，溶于 10mL 蒸馏水。

5. 活化系统的制备

(1) 大鼠肝 S9 的诱导和制备　选健康雄性成年 SD 或 Wistar 大白鼠，体重 150g 左右，周龄约 5～6 周。将多氯联苯溶于玉米油中，浓度为 200mg/kg。一次腹腔注射，5d 后断头处死动物，取出肝脏称重后，用预冷的 0.15mol/L KCl 溶液冲洗肝脏数次。每克肝（湿重）加预冷的 0.15mol/L KCl 溶液 3mL，连同烧杯移入冰浴中，用消毒剪刀剪碎肝脏，用匀浆器（低于 4000r/min，1～2min）制成肝匀浆。以上操作需注意无菌和局部冷环境。

将制成的肝匀浆在低温（0～4℃）高速离心机上以 9000r/min 离心 10min。吸出上清液为 S9 组分，分装。最好用液氮或－80℃低温保存。S9 应经无菌检查，蛋白含量测定，及间接致突变物鉴定其生物活性合格。

(2) S9 混合液的配制

① 0.4mol/L $MgCl_2$-1.65mol/L KCl。称取 $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 8.1g，KCl 12.3g 加蒸馏水稀释至 100mL，0.103MPa 20min 灭菌或滤菌。

② 0.2mol/L 磷酸盐缓冲液（pH7.4）。每 500mL 由以下成分组成：磷酸氢二钠（Na_2HPO_4 14.2g/500mL）440mL，磷酸二氢钠（$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 13.8g/500mL）60mL，调 pH 至 7.4，0.103MPa 20min 灭菌或滤菌。

③ 10% S9 混合液的配制。每 10mL 由以下成分组成，临用时配制。

灭菌蒸馏水 3.8mL，磷酸盐缓冲液（0.2mol/L pH 7.4）5.0mL，1.65mol/L 氯化钾-0.4mol/L 氯化镁溶液 0.2mL，葡萄糖·6-磷酸溶液 0.05mol/L 40μmol，辅酶Ⅱ（0.05mol/

L）50μmol，肝 S9 液 1.0mL。混匀，置冰浴待用。

四、实验设计

根据受试物对细菌的毒性和在配制的最终混合物中的溶解度来确定最高浓度。对无细胞毒性的可溶性受试物，建议最高剂量为每平皿 5mg 或 5μL，或出现沉淀的剂量，或对细菌产生最小毒性剂量。一般选用 4～5 个剂量，进行剂量-反应关系研究。每个剂量应做 2 个或 3 个平行平皿。溶剂可选用水、二甲基亚砜（每皿不超过 0.4mL）或其他溶剂。每次实验应有同时进行的阳性对照和阴性（溶剂）对照。

五、实验步骤

试验菌株采用四株鼠伤寒沙门突变型菌株，不同菌株的基因型和检测类型不同（表 9-5），一般常用 TA98、TA97、TA100 和 TA102。必须进行基因型鉴定、自发回变数鉴定及对鉴别性致突变物的反应鉴定，合格后才能用于致突变试验。实验方法有平板掺入法和点试法。一般用点试法作预试验，以了解受试物对沙门菌的毒性和可能的致突变性，平板掺入法是标准试验方法。

表 9-5　Ames 试验标准试验菌株的基因型和检测类型

菌　株	组氨酸突变部位	突变类型	其他基因标志	检 测 类 型
TA1537	hjC3076	C…C 区域+1	rfa，△uvrB	移码突变
TA97	hisD6610	CCC 区域+4	rfa，△uvrB，PKM 101	移码突变
TA98	hisD3052	CG 区域-1	rfa，△uvrB，pKM 101	移码突变
TA1535	hisG46	AT→CC	rfa，△uvrB	碱基置换（主要检测攻击 G:C 碱基的化学物）
TA100	hisC46	AT→GC	rfa，△uvrB，PKM 101	碱基置换（主要检测攻击 G:C 碱基的化学物）；部分移码突变
TA102(PAQ1)	hisG428	CC→AT	rfa，PKM 101	碱基置换（可检测攻击 A:T 碱基的化学物）；部分移码突变
TA104(pAQ1)	hisG428	GC→AT	rfa，△uvrB，PKM 101	碱基置换（可检测攻击 A:T 碱基的化学物）；部分移码突变

1. 平板掺入法

在底层培养平皿上写上记号。取已融化并在 45℃水浴中保温的顶层培养基一管（2mL），依次加入受试物溶液 0.1mL、测试菌液 0.05～0.2mL（需活化时加 10%S9 混合液 0.5mL），迅速混匀，倒在底层培养基上，转动平皿使顶层培养基均匀分布在底层上，平放固化，37℃培养 48h 观察结果。

2. 点试法

在底层培养皿写上记号。取已融化并在 45℃水浴中保温的顶层培养基两管（2mL），加入测试菌液 0.05～0.2mL（需活化时加 10%S9 混合液 0.5mL），迅速混匀，倒在底层培养基上，转动平皿使顶层培养基均匀分布在底层上，平放固化。取无菌滤纸圆片（直径 6mm），小心放在已固化的顶层培养基的适当位置上，用移液器取适量受试物（如 10μL）点在纸片上，或将少量固体受试物结晶加到纸上或琼脂表面，37℃培养 48h 观察结果。

六、实验结果

1. 点试法结果分析。凡在点样纸片周围长出一圈密集的 his^+ 回变菌落者，该受试物即为致突变物质。如只在平板上出现少数散在的自发回变菌落，则为阴性。如在滤纸片周围见到抑菌圈，说明受试物具有细菌毒性。

2. 掺入法结果分析。计数培养基上的回变菌落数。如在背景生长良好条件下，受试物每皿回变菌落数增加一倍以上（即回变菌落数等于或大于2乘以空白对照数），并有剂量-反应关系或至少某一测试点有重复的并有统计学意义的阳性反应，即可认为该受试物为诱变阳性。当受试物浓度达到5mg/皿仍为阴性者，可认为是阴性。

3. 报告的试验结果应是两次以上独立实验重复的结果。如果受试物对4种菌株（加和不加S9）平皿掺入试验均得到阴性结果，可认为此受试物对鼠伤寒沙门菌无致突变性。如受试物对一种或多种菌株（加或不加S9）平皿掺入试验得到阳性结果，即认为此受试物是鼠伤寒沙门菌的致突变物。

4. 录入数据，对数据进行统计检验，如表9-6所示。

表9-6　鼠伤寒沙门菌回复突变实验结果

方　法		阳性对照组	阴性对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
点试法	菌落情况					
	P					
掺入法	回变菌落数					
	P					

七、注意事项

1. 应有专门的实验室，应有良好的通风设备。
2. 试验者必须注意个人防护，尽量减少接触污染的机会。
3. 受试的致癌物与致突变物的废弃处理，原则上按放射性核素废弃物处理方法进行。

八、思考题

1. 鼠伤寒沙门菌回复突变试验最常用试验菌株有哪几种？
2. 为什么要对试验菌株进行鉴定后才能进行实验？

第十章　食品工艺学实验指导

实验一　碳酸饮料的制作

一、实验目的

1. 了解碳酸饮料加工工艺流程，掌握饮料碳酸化处理的方法。
2. 掌握果味碳酸饮料的调配技术及控制饮料成品质量的措施。

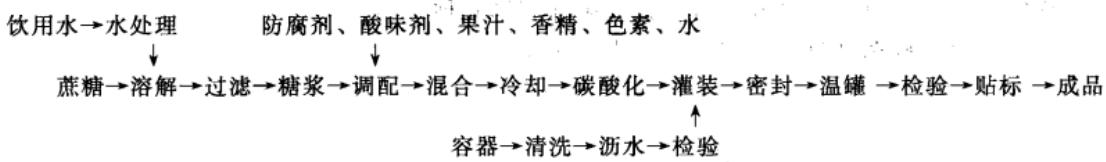
二、仪器与设备

电子天平，榨汁机，胶体磨，均质机，混合机，灌装机，封盖机，温罐机，筛网（100目、200目），不锈钢锅，不锈钢勺，1000mL量筒，500mL烧杯，玻璃棒，温度计，酸性精密pH试纸等。

三、实验原料

蔗糖12kg，蛋白糖（50倍）0.1kg，焦糖2kg，橘汁（橙汁）1kg，苹果清汁1kg，柠檬酸1kg，苹果香精100mL，可乐香精50mL，靛蓝12g，柠檬黄10g，苯甲酸钠200g。

四、工艺流程



五、实验步骤

1. 调和糖浆的配制

调配顺序：原糖浆、防腐剂、酸味剂、果汁、香精、色素、水。

2. 混合

将调和糖浆与处理后的饮料用水按比例混合，并搅拌均匀。

3. 冷却、碳酸化

将调配好的半成品饮料经冷却器冷却到4℃或4℃以下，通过混合机进行碳酸化，使二氧化碳的倍数达到2.5～3倍。

4. 灌装、密封

用洗净的饮料瓶进行等压灌装，灌装好后立即封盖。灌装的质量要求：达到预期的碳酸化水平；保证糖浆和水的正确比例；保持合理和一致的灌装高度；容器顶隙应保持最低的空气量；密封严密有效；保持产品的稳定性。

5. 温罐（洗瓶）

将灌装好的饮料罐或饮料瓶通过温罐机，用70℃左右的热水洗去罐或瓶壁上附着的糖浆，

同时起到巴氏杀菌的作用。温罐时间一般为 5～10min。

六、质量要求

1. 感官指标

碳酸饮料的感官指标见表 10-1。

表 10-1　碳酸饮料的感官指标

项目		果汁型	果味型	可乐型	低热量型	其他型
色泽		应接近与品名相符的鲜果或果汁的色泽	应接近与品名相符的鲜果或果汁的色泽	深棕色或无色	具有与品名相符的色泽	具有与品名相符的色泽
香气		具有该品种鲜果之香气，香气协调柔和	具有近似该品种鲜果之香气，香气较协调柔和	具有可乐及水果应有的香气，香气协调柔和	具有该品种应有的香气，香气较协调柔和	具有该品种应有的香气，香气较协调柔和
滋味		具有该品种鲜果汁之滋味，味感纯正、爽口，酸甜适口，有清凉感		口味正常，味感纯正、爽口，酸甜适口，有清凉感	具有该品种应有的滋味，味感纯正、爽口，有清凉感	具有该品种应有的滋味，味感纯正、爽口，有清凉感
外观	清汁类	透明，无沉淀				
	混汁类	浑浊均匀，浊度适宜，允许有少量果肉沉淀		—	浑浊均匀，浊度适宜，允许有少量沉淀	
杂质		无肉眼可见的外来杂质				

2. 理化指标

碳酸饮料的理化指标见表 10-2。

表 10-2　碳酸饮料的理化指标

项目		果汁型			果味型			可乐型	低热值型	其他型
		柑橘	柠檬	其他	柑橘	柠檬	其他			
可溶性固形物(20℃折光仪法)/%	全糖	≥9.0							<4.5	≥9.0
	低糖	≥4.5								≥4.5
二氧化碳气容量(20℃时容积倍数)		2.0			2.0	2.5	2.0	3.0	按相应型气容量要求	2.0
总酸/(g/L)≥	以1分子水柠檬酸计	1.00	0.60		1.00		0.60	0.80	按相应型总酸要求	0.60
	以磷酸计	—						0.45	—	—
咖啡因/(mg/L)≤		—						150	—	
甜味剂		按 GB 2760 规定								
防腐剂		按 GB 2760 规定								
着色剂		按 GB 2760 规定								

3. 微生物指标

细菌总数：每毫升小于 100 个；大肠杆菌总数：每 100mL 小于 6 个；致病菌：不得检出。

实验二　甜橙汁饮料的制作

一、实验目的

学习并掌握甜橙汁饮料的生产工艺和制作方法。

二、仪器设备

烧杯，量筒，长滴管，玻璃棒，汽水瓶，王冠盖，压盖机，蒸煮锅，打浆机（或组织捣碎

机），均质机，电炉，过滤筛，手持式糖度计。

三、实验材料

甜橙 10kg，原汁（橙汁）1.5kg，蔗糖 2kg，柠檬酸 100g，山梨酸 200g。

四、工艺流程

原料→清洗→剥皮→打浆→粗滤→调配→均质→杀菌→灌装→封口→冷却→成品

五、实验步骤

1. 清洗

选用甜酸适度、可溶性固形物含量高、出汁率高的成熟果，用清水浸泡，洗尽泥沙。

2. 剥皮

将甜橙放入 100℃沸水中浸烫 1min 左右。如果皮厚、成熟度低，可延长浸烫时间，然后趁热手工剥皮。

3. 打浆

去皮后的橙子放入打浆机中打浆，并经孔径 0.4～0.8mm 筛板筛滤，再用布袋过滤。

4. 调酸

过滤的果汁可添加一些甜橙汁（10%～15%），以增加橙汁风味。为提高果汁糖度，需加一定量的糖和柠檬酸，将果汁含酸量调至 0.8%、糖度 16%为宜。

5. 均质

橙汁在 180～190kgf/cm^2 的压力下，使果汁中所含的粗大悬浮粒微细化，使其均匀、稳定地分布在果汁中。

6. 杀菌

加热至 87～90℃，若瓶装后不再杀菌，则需将汁温加热至 95℃，维持 30min。

7. 灌装

在汁温不低于 80℃时，旋紧瓶盖，用胶帽封好，冷却。

六、质量要求

1. 感官指标

① 饮料呈淡黄色或橙黄色。

② 酸甜适口，无异味，有橙汁应有的风味。

③ 汁液均匀浑浊，静置后允许有少量沉淀。

④ 原果汁含量不得低于 45%，可溶性固形物含量在 13%～15%左右。

2. 理化指标

总糖含量≥8%；总酸含量≥0.5%。

3. 卫生指标

参照 GB 2759。

七、注意事项

① 注意安全：用电安全。

② 注意卫生：实验过程中及时清理废弃物。

③ 配料时以参考配方为基准。

实验三　夹馅面包的制作

一、实验目的

了解夹馅面包的生产工艺和操作方法。

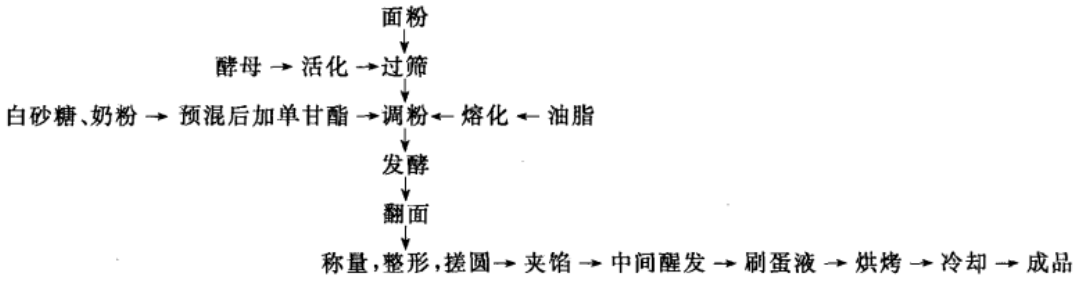
二、仪器与设备

电子天平，煤气灶，温度计，烧杯，量筒，匙，玻璃棒，调面机，面包烤盘，筛子，醒发箱，铲刀等。

三、实验原料

面粉 300g，酵母 4.5g，白砂糖 45g，奶粉 30g，油脂 15g，单甘酯 0.6g，水 170mL 左右。

四、工艺流程



五、实验步骤

1. 原料预处理

① 面粉过筛，备用。

② 油脂熔化，备用。

③ 酵母活化。酵母用 7 倍水（30℃左右）活化，在酵母分散液中加入 5%砂糖。

④ 白砂糖与奶粉互混，加入单甘酯，用余下的水溶化。

2. 面团的调制

所有物料除油脂外，一次加入调面缸内，低速搅打 2～3min，成团后加入油脂快速搅打 4～5min。

3. 面团发酵

温度 28℃，相对湿度 75%，时间 2h 左右。

4. 面团翻面

高速搅打 2～3min。

5. 整形搓圆

将面团分割成一定重量的小块，用 5 个手指握住小面块，手心向下在台板上作旋转运动，直至将面块搓成表面光洁的球形面团。

6. 夹馅

将馅料分割成一定重量的小块，搓成球形，备用；将球形面团用手揿扁，在其中央放上馅芯，对折成半扁形；用刀在半圆周上切四刀。

7. 中间醒发

28℃，75%，20min 左右。

8. 压片成型

9. 醒发

38℃，85%，20min 左右。

10. 静置 20min，刷蛋液

11. 焙烤

见表 10-3 操作步骤。

表 10-3　焙烤操作步骤

次序	上火	下火	时间
1	140℃	190℃	7～8min
2	220℃	120℃	5～7min
3	120℃	120℃	1～2min

12. 冷却包装

六、质量标准要求

色泽：表面金黄色，色泽均匀。

形态：高度大于 4cm，周边带齿形，齿形均匀，表面光滑，不起泡。

组织：细密均匀，具有弹性，无大孔洞，馅料分布均匀。

口味：松软，具烘烤制品之香味，无酸味，不粘牙。

水分：36%～42%。

酸度：pH＞4.2（春、秋、冬三季）；pH＞4.5～4.8（夏季）。

实验四　酥性饼干的制作

一、实验目的

掌握酥性饼干的调粉原理，熟悉其生产工艺和操作方法。

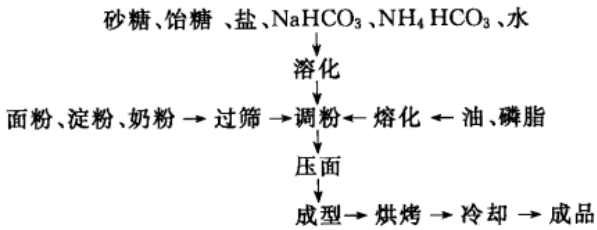
二、仪器与设备

电子天平，煤气灶，温度计，烧杯，量筒，汤匙，药匙，调面机，压面机，印模，烤炉等。

三、实验原料

面粉 564g，淀粉 30g，饴糖 24g，白砂糖 190g，奶粉 30g，奶油 120g，食盐 3g，磷脂 6g，碳酸氢钠 2.1g，碳酸氢铵 0.9g 等。

四、工艺流程



五、实验步骤

1. 原料预处理

① 糖水配制。白砂糖加水加热煮沸，待全部溶解后加入饴糖，搅匀，煮沸，备用。

② 油脂熔化（隔水），备用。

③ 配料溶解。用少量水溶解碳酸氢钠、碳酸氢铵备用，用水溶解盐备用。

④ 面粉、淀粉、奶粉分别用筛子过筛，备用。

2. 面团的调制（总用水量 120mL 左右）

① 将糖水（30℃以下）、油、磷脂、碳酸氢钠、碳酸氢铵、盐水、奶粉倒入调面缸，开启搅拌，拌匀。

② 将面粉、淀粉加入调面缸内，继续搅拌 5～10min 左右，制成软硬适中的面团，面团温度一般为 25～30℃。

3. 压面成型

将调制好的面团分成小块，通过压面机将其压成表面光洁、厚度为 2.5～3mm 的均匀面带，用冲模冲成一定形状的饼干胚。

4. 焙烤冷却

① 将装有饼胚的烤盘送入饼干烤炉，在上火 160℃左右、下火 150℃左右的温度下烘烤。

② 冷却至室温，包装。

六、质量要求

对照产品质量标准，将实验组和对照组分别加以比较，写出分析评价报告。

色泽：谷黄或浅谷黄色，色泽均匀；

形态：平稳，块形完好，组织均匀，不起泡，凹底不超过底面积 1/3，不收缩变形，不油摊；

花纹：线条清晰，深浅不论；

口味：松酥、无异味；

水分：＜4%。

实验五　香肠的制作

一、实验目的

1. 了解香肠的加工原理，掌握香肠加工工艺及操作要点。

2. 了解香肠加工设备的基本原理，掌握设备的操作方法。

3. 培养学生将理论知识应用于实际的能力，提高学生的动手操作能力。

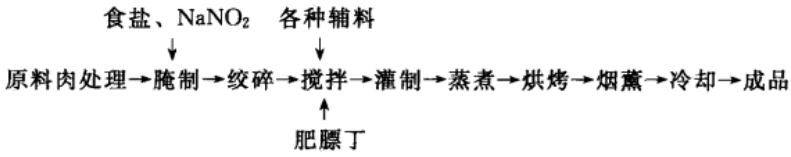
二、仪器与设备

绞肉机，真空搅拌机，灌肠机，烟熏蒸煮炉，刀具，案板，盆等。

三、实验原料

猪精肉，猪肥膘，马铃薯淀粉，食用精盐，味精，黑胡椒粉，蒜，$NaNO_2$，肠衣 1 扎。

四、工艺流程



五、实验步骤

1. 原料肉预处理

去皮、去骨以及去筋腱、肌膜等，并将精肉与肥膘分开，切成长条，放入盆中待腌制。

2. 腌制

称取食盐 400g、$NaNO_2$ 2.4g，逐渐添加到腌制盆中，随加随拌，力求均匀，然后放入4℃冷库中腌制 12h 以上。

3. 绞肉

将精肉 15kg 和蒜 110g 一并用绞肉机绞碎成泥状；肥膘切成 $1cm^3$ 的小丁。

4. 搅拌

将肉泥、24g 黑胡椒粉、32g 味精和 2.5kg 马铃薯淀粉一起倒入真空搅拌机，边搅拌边加水，总共约需 1h。

5. 灌肠

用气动定量灌装机完成灌肠工作。

6. 蒸煮、烟熏

将灌好的肠体放入熏蒸炉内，温度设在 76～78℃之间，蒸煮 50min，烘干后，再把温度设在 68～70℃之间，烟熏 2h。

7. 冷却、成品

六、质量要求

1. 感官指标

肠衣（肠皮）干燥完整，并与内容物密切结合，坚实而有弹力，无黏液及霉斑。切面坚实而湿润，肉呈均匀的蔷薇红色，脂肪为白色。无腐臭，无酸败味。

2. 理化指标

见表 10-4。

表 10-4 香肠加工理化指标

项　目		指　标
亚硝酸盐(以 $NaNO_2$ 计)/(mg/kg)	≤	30
食品添加剂		按 GB 2760 规定

3. 微生物指标

见表 10-5。

表 10-5 香肠加工微生物指标

项　目		指　标
菌落总数/(个/g)	≤	20000
大肠菌群/(个/100g)	≤	30
致病菌(系指肠道致病菌及致病性球菌)		不得检出

实验六　传统西式火腿的制作

一、实验目的

1. 掌握传统西式火腿的加工工艺及操作要点。

2. 了解传统西式火腿加工与其他类型火腿加工的区别。

二、仪器与设备

盐水注射机，真空滚揉机，绞肉机，搅拌机，刀具，模具，盆，蒸煮炉，杀菌釜等。

三、实验原料

猪后腿肉 20kg，水 50kg，精盐 7.5kg，白糖 6kg，三聚磷酸钠 1.5kg，维生素 C 0.045kg，亚硝酸钠 0.045kg。

四、工艺流程

原料修整→盐水注射→腌制→滚揉→装模→蒸煮→冷却→包装

五、实验步骤

1. 腌制液配制

水 50kg，精盐 7.5kg，白糖 6kg，三聚磷酸钠 1.5kg，维生素 C 0.045kg，亚硝酸钠 0.045kg，上述材料于腌制料筒中混合均匀，备用。

2. 原料修整

选用经兽医卫生检验合格的猪后腿或大排肌肉作为原料，去除骨、肥膘、血管、伤斑后，剔除皮骨、筋腱、肌膜等结缔组织，切成 50g 左右的肉块，控制肥瘦比为 1∶9。

3. 盐水注射

注射用的腌制液，主要成分是食盐、亚硝酸盐、糖类、柠檬酸、抗坏血酸钠、磷酸盐等。腌制液应根据注射量来调制，调制后采用多针头盐水注射器均匀注入肌肉中，注射量为肉重的 20%～25%，盐水温度为 8～10℃。

4. 滚揉

经盐水注射的原料肉要进行滚揉（也叫按摩）。滚揉是在滚揉机内进行的。可采用连续式滚揉和间歇式滚揉。连续式即连续滚揉 4h，无休息时间，滚揉筒转速为每分钟 8～15 转，然后在 5℃以下冷库腌制 12h。间歇式滚揉即滚揉 10min，休息 20min，滚揉的总时间根据滚揉筒每分钟的转数计算，一般要求总转数达到 5000～6000 转。不论以何种方式滚揉，滚揉温度均要求在 8℃以下。

5. 装模或灌装

滚揉好的原料肉称重后定量装入尼龙塑料袋中，装好后，在袋的下部及四周扎孔，然后装入不锈钢模具中，加上盖子压紧。也可直接用灌装机将原料肉灌入天然肠衣或人造肠衣（如聚偏二氯乙烯肠衣、纤维素肠衣）中，两端打上铝卡。

6. 蒸煮

可用蒸汽或水浴蒸煮。水浴煮制时，先将装肉的模具装入水温约 55℃水浴锅中，水位稍高于模具，然后用蒸汽加热，使肉的中心温度达到 70～72℃即可。灌入肠衣的火腿可先在 55℃的蒸汽或水浴中发色 60min，随后将温度升高到 74～76℃，使火腿中心温度达到 70～72℃。

7. 冷却

蒸煮结束的西式火腿，用冷水淋浴冷却之后存放在 5℃以下冷库内。

六、质量要求

1. 感官指标

（1）外观　肠衣干燥，无破损且紧贴肉馅，无黏液及霉味，坚实而有弹性。

（2）组织状态　切面坚实，无裂隙及软化现象，内部结实无空洞，切片不松散。

(3) 滋味　具有火腿固有香味，咸淡适中，无异味。

(4) 色泽　肉馅有光泽，肌肉呈粉红色。

2. 理化指标

见表 10-6。

表 10-6　西式火腿加工的理化指标

项　目		指　标
亚硝酸盐(以 $NaNO_2$ 计)/(mg/kg)	≤	30
复合磷酸盐(以磷酸盐计)/(g/kg)	≤	8.0
铅(以 Pb 计)/(mg/kg)	≤	1
苯并[a]芘		按 GB 7104 规定

注：复合磷酸盐残留量包括肉类本身所含磷及加入的磷酸盐。

3. 微生物指标

见表 10-7。

表 10-7　西式火腿的微生物指标

项　目		指　标
菌落总数/(个/g)	≤	10000
大肠菌群/(个/100g)	≤	30
致病菌		不得检出

注：致病菌系指肠道致病菌及致病性球菌。

实验七　蔬菜肉脯的制作

一、实验目的

1. 掌握肉脯的加工原理以及传统与现代两种加工工艺和操作要点。
2. 了解肉脯加工所需要的各种实验设备，掌握设备的操作方法。
3. 培养学生理论应用于实际的能力，提高学生的动手操作能力。

二、仪器及设备

搅肉机，斩拌机，烤箱，烤盘，榨汁机，刀具，案板，不锈钢盆，电子分析天平，真空包装机等。

三、实验原料

猪肉 10kg，胡萝卜汁 60g，胡萝卜渣 30g，食盐 15g，五香粉 5g，白砂糖 50g，酱油 30g，黄酒 50g，味精 2g，复合磷酸盐 2g。

四、工艺流程

原料预处理→绞碎→调味腌制→斩拌→抹片→烘干→焙烤→切片→冷却→成品

五、实验步骤

1. 原料预处理

(1) 猪肉　猪腿肉，要求修去碎骨、软骨、筋、脂肪膜、淋巴等物质，肥瘦分开，分别分割成小块，肥瘦比在 1∶5 左右。

(2) 蔬菜　胡萝卜洗净榨汁（汁和渣分离）。

2. 绞碎

将肥瘦肉分别用绞肉机绞成肉糜，绞肉过程应保持肉温低于10℃。

3. 调味腌制

以原料肉为基准，按6%胡萝卜汁、3%胡萝卜渣、1.5%食盐、5%白砂糖、0.5%五香粉、3%酱油、5%黄酒、0.2%味精、0.2%复合磷酸盐的比例与肉泥混合均匀，于0～4℃下腌制24h。

4. 斩拌

将腌制好的肉泥用斩拌机斩拌至肉泥发黏。

5. 抹片

将斩拌好的肉泥放在烤盘上抹成大约5mm左右厚的薄层，要求表面平整光滑。

6. 烘干

将铺平在烤盘上的肉泥薄层放入烤箱中，采用前高温后低温烘干，即先80℃烘20min，再65～68℃烘100min，成品品质较好。

7. 焙烤

把半成品放在烘炉的转动铁网上，烘炉的温度为200℃左右，时间8～10min，以烤熟为准，不得烤焦。成品中含水量小于20%。

8. 切片

焙烤后的肉片用切形机或手工切形，一般可切成6～8cm的正方形或其他形状的肉脯。

9. 冷却、包装和贮藏

六、质量要求

1. 感官指标

见表10-8。

表10-8 蔬菜肉脯感官品质评分标准

项　目	评 分 标 准
形态	1. 片形规则、完整，厚薄基本均匀，无焦片、无生片的，评5分
	2. 片形基本规则、完整，有微小空洞，评3～4分
	3. 片形不规则、不整齐，厚薄不太均匀，有焦片和生片的，评1～2分
色泽	1. 色泽鲜明，符合标准的，评5分
	2. 色泽良好的，评3～4分
	3. 色泽较差的，评1～2分
滋味与气味	1. 滋味与气味符合感官指标的，评5分
	2. 滋味良好，有偏甜或偏咸感，香味稍欠缺的，评3～4分
	3. 滋味和香味都差，偏甜或偏咸，不适口，评1～2分
杂质	1. 无杂质的，评5分
	2. 有杂质，按杂质多少，分别评1～4分

2. 理化指标

见表10-9。

表10-9 蔬菜肉脯理化指标

项　目		指　标
水分/%	≤	22
食品添加剂		按GB 2760执行

3. 微生物指标

见表10-10。

表 10-10　蔬菜肉脯微生物指标

项　目		指　标
菌落总数/(个/g)	≤	10000
大肠菌群/(个/100g)	≤	30
致病菌		不得检出

注：致病菌系指肠道致病菌及致病性球菌。

实验八　酸奶的制作

一、实验目的

1. 掌握酸奶的制作原理。
2. 熟悉凝固型酸奶和搅拌型酸奶制作的基本过程。

二、实验原理

酸奶是由嗜热链球菌及德氏乳杆菌保加利亚亚种共同发酵生产的。两者具有良好的相互促进生长的关系。在乳中德氏乳杆菌保加利亚亚种经代谢活动，分解乳蛋白质产生了肽类和氨基酸类物质，这类物质作为刺激因素促进了嗜热链球菌的生长；同样，嗜热链球菌在生长过程中产生的甲酸类化合物也促进了德氏乳杆菌保加利亚亚种的生长。两者共同作用发酵乳中的乳糖产生乳酸，当乳 pH 达到酪蛋白的等电点时，酪蛋白胶粒便凝聚形成特有的网络结构。

三、实验材料及设备

1. 原料

牛乳，白砂糖，果酱，香精，脱脂粉。

2. 材料

2～5mL 灭菌吸管，吸耳球，20mL 试管，250mL 三角瓶，500mL 三角瓶。

3. 仪器

恒温培养箱，均质机，杀菌机，灌装机，冰箱，冷藏库等。

四、工艺流程

原料预处理→标准化和配料→均质→杀菌→冷却和添加发酵剂→灌装和发酵→冷却和后酵→凝固酸奶

↓

发酵→冷却和添加果料→分装→后酵→搅拌酸奶

五、实验步骤

1. 发酵剂制备

(1) 菌种的活化　菌种的活化按无菌操作在超净台中进行，当菌种为液体时，用灭菌吸管吸取 1～2mL 接种于灭菌脱脂乳试管中；菌种为粉末状时，用灭菌铂耳取少量接种混合后，置于恒温箱中培养到乳凝固。从凝固后的培养物中取 2%～3%再接种于灭菌脱脂乳培养基中，依次反复活化数次。当菌种充分活化后，即可调制母发酵剂。

(2) 调制母发酵剂　取制备母发酵剂用脱脂乳量 2%～3%充分活化的菌种，接种于装有灭菌脱脂乳的三角瓶中，充分混匀后，置于恒温箱中培养。待凝固后即可供制备工作发酵剂。

(3) 调制工作发酵剂　取制备工作发酵剂用脱脂乳量 2%～3%的母发酵剂接种于装有灭菌全乳的三角瓶中，充分混匀后，置于恒温箱中培养。待凝固后即可供生产酸奶时使用。

2. 酸奶制作

(1) 凝固型酸奶制作

① 原料预处理。将原料乳过滤，加热到 50～60℃。

② 标准化和配料。用脱脂乳粉进行乳固化强化并添加 6%～8%的蔗糖。

③ 均质。将乳加热到 60～70℃，并于 16～18MPa 下进行均质。

④ 杀菌。均质后的乳进行 95℃、5min 或 90℃、10min 的热杀菌处理。

⑤ 冷却和添加发酵剂。杀菌后乳冷却到 43～45℃，将工作发酵剂按 3%～5%的比例摇匀后加入乳中，并充分混匀。

⑥ 灌装和发酵。尽快将乳分装于灭菌的酸奶瓶或杯中，封口，置于 42℃恒温培养箱中发酵 3～4h。

⑦ 冷却和后酵。待乳凝固后，轻轻将酸奶瓶或杯置于 4～5℃，后酵 10～12h，即为成品。

(2) 搅拌型酸乳制作

① ①～⑤操作过程同上。

② 发酵。将乳置于发酵罐中 43℃恒温培养发酵 3～4h，当酸度达到 pH 4.2～4.5 时，停止发酵。

③ 冷却和添加果料。当发酵达到终点时缓慢搅拌进行冷却，温度达到 15～20℃时添加果料和香精等辅料。

④ 灌装和后酵。采用容积泵将冷却发酵乳灌装于容器中密封保藏，置于 4～5℃冷藏库或者冰箱中后酵 10～12h 即为成品。

六、质量要求

(1) 感官指标　呈乳白色或稍带淡黄色，具有清香纯净的乳酸味，凝块稠密结实均匀，无气泡，允许少量乳清析出。

(2) 理化指标　脂肪不得少于 3%；酸度 0.63%～0.99%（以乳酸计）；汞每千克不得超过 0.01mg。

(3) 细菌指标　大肠菌群每 100mL 不得超过 90 个，肠道致病菌及致病性球菌不得检出。

七、注意事项

1. 制备发酵剂时应严格执行无菌操作，防止杂菌污染影响发酵剂质量。
2. 发酵结束后应迅速降低发酵乳的温度，防止过度产酸，影响产品口感。

实验九　发酵乳饮料的制作

一、实验目的

1. 掌握发酵乳饮料的制作原理。
2. 熟悉发酵乳饮料制作的工艺流程和操作要点。

二、实验原理

利用酸奶制作原理，由嗜热链球菌及德氏乳杆菌保加利亚亚种等益生乳酸菌共同发酵生产发酵乳，并与其他配料进行混合稀释制得的一种饮料产品，分灭菌型和活菌型两种。

三、实验原料

发酵酸乳 30%～40%，糖 11%，果胶 0.4%，果汁 6%，20%乳酸-柠檬酸溶液 0.23%，香精 0.15%，水 52.22%。

四、工艺流程

原料乳过滤预热→均质→杀菌→冷却→接种与发酵→冷却→调配→均质→杀菌→冷却→灌装→灭菌型发酵乳饮料

↓

配料混合→杀菌→冷却→无菌调配→均质→冷却→灌装→活菌型发酵乳饮料

五、实验步骤

1. 牛乳过滤、预热、均质、杀菌、接种与发酵、冷却等

操作步骤同实验八。

2. 调配

根据配方将稳定剂、糖混匀后，溶解于50～60℃的软水中，待冷却到20℃后与一定量的发酵乳混合并搅拌均匀，同时加入果汁，并在强烈搅拌下缓慢加入浓度为20%的乳酸-柠檬酸溶液（柠檬酸：乳酸＝2：1），直到pH达到4.0～4.2，同时加入香精。

3. 均质

将调配好的混合乳预热到60～70℃，并于20MPa下进行均质。

4. 杀菌、冷却和灌装

均质后将发酵乳饮料在85～90℃下杀菌20～30min后冷却到20～30℃，再灌装于包装容器内。

六、质量要求

1. 感官指标

色泽：均匀乳白色或乳黄色。果菜汁发酵的品种可带有果菜汁的色泽。

滋味和气味：酸甜适口，具有乳酸菌饮料特有的滋味气味，无异味。

组织状态：呈均匀细腻的乳浊液，允许有少量沉淀，无异物，无分层现象。

2. 理化指标

见表10-11。

表10-11 理化指标

项　目	要　求
净容量允许差/%	≤±4(每批产品平均净容量不得低于规定净容量)
蛋白质/%	≥0.7
可溶性固形物/%	≥10
酸度/°T	25～80
砷/(mg/kg)	≤0.5
铅/(mg/kg)	≤1.0
铜/(mg/kg)	≤5.0

3. 微生物指标

见表10-12。

表10-12 微生物指标

项　目	活性乳酸菌饮料	非活性乳酸菌饮料
乳酸菌数(出厂时)/(个/mL)	$\geqslant 10^6$	
菌落总数/(个/mL)	≤100	≤100
大肠菌群/(个/100mL)	≤3	≤3
致病菌(系指肠道致病菌及致病性球菌)	不得检出	不得检出
酵母/(个/mL)	≤50	≤50
霉菌/(个/mL)	≤30	≤30

七、注意事项

1. 加酸时切记在高速搅拌下缓慢加入，防止局部酸度过高造成蛋白质变性。

2. 为使稳定剂发挥应有的作用，必须保证正确的均质温度和压力。

实验十　冰激凌的制作

一、实验目的

1. 了解冰激凌的制作原理和基本配方。
2. 掌握凝冻机的工作原理和操作技术。
3. 充分理解和体会冰激凌老化和凝冻的作用。

二、仪器与设备

小型整体式膨化雪糕机，不锈钢配料桶，冰柜，保温销售箱，电炉，小型均质机，铝锅，台秤，80目筛，包装纸，包装箱，小竹棒，搅拌棒。

三、实验原料

（牛）奶粉1.0kg，白糖1.2kg，蛋白糖（30倍）0.01kg；甜蜜素6.5g，糊精0.2kg，淀粉0.2kg，鲜奶素0.010kg，柠檬黄适量，棕榈油0.15kg，冰激凌稳定剂0.05kg，蛋黄粉0.1kg，加水至10.0kg。

1. 中脂拉花冰激凌配方（参考）

（牛）奶粉5kg，白糖15kg，蛋白糖（30倍）0.1kg，甜蜜素65g，糊精2kg，淀粉2kg，鲜奶素0.05kg，炼奶香精60g，柠檬黄适量，棕榈油3kg，稳定剂0.5kg，增效剂60g，加处理水至100kg。

2. 果味涂层冰激凌（参考）

（1）主料　糖15%，奶粉8%，棕榈油6%，蛋黄粉1%，糊精1%，复合乳化剂0.4%，香兰素0.01%，甜蜜素0.05%，香精0.1%。

（2）涂层　糖16%，葡萄糖浆10%，保水剂8%，明胶8%，涂膜剂1%，氯化钙0.2%，复合酸味剂0.2%，色素适量。

四、工艺流程

原料→过筛→混合→溶化搅拌→均质→巴氏杀菌→冷却→成熟老化→加香精→凝冻→灌注纸杯(或模具)→速冻硬化→检验→成品

五、实验步骤

1. 奶粉须溶化后经120目筛子过滤。
2. 棕榈油须熔化后使用。
3. 稳定剂等量较小的辅料须与砂糖混合后加入。
4. 均质　1.47×10^7～1.76×10^7Pa（约15MPa），60～70℃。
5. 杀菌　76～78℃，20～30min；或80～83℃，10～15min。
6. 冷却　用冷热交换器迅速冷却到4～5℃。
7. 凝冻　－5～－3℃，10～12min；刮刀转速150～240r/min；刮刀与桶壁的间距为0.2～0.3mm。
8. 灌装　灌装在纸杯中可作为软质冰激凌直接食用；实验室可灌装在雪糕模具中。
9. 硬化　在－35～－25℃、1～6h的条件下，将灌装冰激凌的纸杯进行速冻硬化。实验室可将灌装冰激凌的雪糕模具放入提前预冷到－23℃左右的盐水池中速冻。
10. 贮藏　将成品放入－20℃以下的冷库或冰柜中贮藏。

11. 成品　根据灌装的模具，可得到相应式样的冰激凌。

六、质量要求

1. 感官指标

色泽：应具有与该品种相应的色泽，均匀一致。

滋味及气味：应具有该品种特有的香气和风味，不得有酸味、金属味，无其他异味。

组织：细腻滑润，无外来杂质，无乳糖，无冰结晶，无乳酪粗粒存在。涂巧克力的冰激凌，无破裂现象，应光滑完整。

形态：形态完整，无变形，无收缩现象。

包装：清洁完整，无渗漏现象。

2. 理化指标

如表 10-13 所示。

表 10-13　冰激凌的理化指标

品　种	甲级	乙级	丙级	丁级
总干物质含量/%	≥38	≥36	≥34	≥32
总糖分/%	≥15	≥16	≥16	≥18
脂肪含量/%	≥12	≥10	≥8	≥6
总蛋白质含量/%	≥2.8	≥2.6	≥2.4	≥2.0
酸度(以乳酸计)/%	≤0.20	≤0.20	≤0.20	
膨胀率/%	95～100	90～95	90～95	
铜含量/(mg/kg)	≤10	≤10	≤10	
铅含量/(mg/kg)	≤1	≤1	≤1	
砷含量/(mg/kg)	≤0.5	≤0.5	≤0.5	
质量/g	净质量 100g 及 100g 以下，公差允许±4%；净质量 100g 以上、250g 及 250g 以下，公差允许±3%；净质量 250g 以上，公差允许±2%			

3. 微生物指标

如表 10-14 所示。

表 10-14　冰激凌的微生物指标

品　种	指　标		
	细菌总数	大肠菌群数/(个/100mL)	致病菌(指肠道致病菌、致病性球菌)
含乳蛋白 10%以上	≤30000	≤450	不得检出

实验十一　干酪的制作

一、实验目的

1. 熟悉干酪的制作原理。

2. 掌握硬质干酪制作的工艺过程和质量评价标准。

二、实验原理

发酵剂作用原理：产生乳酸，促进凝乳酶的凝乳作用；促进凝块的收缩，产生良好的弹性；发酵剂的乳酸菌可以产生相应的蛋白酶、脂肪酶等分解蛋白质和脂肪等物质，在成熟过程中产生相应的风味物质。

皱胃酶的凝乳原理：酪蛋白在皱胃酶的作用下，形成副酪蛋白，此过程为酶性变化；产生的副酪蛋白在乳中游离钙的存在下，副酪蛋白分子间形成“钙桥”，使副酪蛋白胶粒发生团聚

作用而产生凝胶体。

三、实验材料与仪器

1. 原料

鲜牛乳，皱胃酶，1%食盐溶液，发酵剂，食盐，10% $CaCl_2$。

2. 仪器

凯氏定氮仪，盖勃乳脂离心机，乳脂分离机，水浴锅，凝乳槽，干酪刀，干酪耙，成型器，压榨机。

四、工艺流程

原料乳→预处理→添加发酵剂和预酸化→加入添加剂→添加凝乳酶和凝乳的形成→凝块切割→凝块的搅拌及加温→排出乳清→堆积→加盐→成型→成熟→成品

五、实验步骤

1. 原料乳预处理

(1) 原料乳要求　原料乳必须是由健康乳畜分泌的新鲜优质乳，必须经感官鉴定、酸度测定或酒精试验，必要时进行青霉素及其他抗生素实验。检查合格后，进行原料乳的预处理。

(2) 标准化　保证每批干酪的质量均一，要准确测定原料乳的乳脂率和酪蛋白含量，调整原料乳中的脂肪和非脂乳固体之间的比例，使其比值符合产品要求。脂肪要求 2.8%～3.5%，脂肪和酪蛋白比例以 1∶0.7 为好。

(3) 原料乳杀菌　采用 63℃、30min 或 71～75℃、15s 巴氏杀菌。

2. 添加发酵剂和预酸化

原料乳经杀菌后，直接打入干酪槽中，干酪槽中的牛乳冷却到 30～32℃。

取原料乳量 1%～2%制好的工作发酵剂（乳酸乳球菌乳酸亚种和乳酸乳球菌乳脂亚种），边搅拌边加入，并在 30～32℃条件下充分搅拌 3～5min。为了促进凝固和正常成熟，加入发酵剂后进行短时间的发酵（15～30min），以保证充足的乳酸菌数量，此过程为预酸化。

3. 加入添加剂

在 100kg 原料乳中添加 5～10g $CaCl_2$（预先配置成 10%的溶液），以调节盐类平衡，促进凝块的形成。为了使产品的色泽一致，需在原料乳中添加胡萝卜素等色素物质，通常每 1000kg 原料乳中加 30～60g。为防止和抑制产气菌，可同时加入适量硝酸盐（精确计算）。

4. 添加凝乳酶和凝乳的形成

(1) 凝乳酶的添加　通常按凝乳酶效价和原料乳的量计算凝乳酶的用量。用 1%的食用盐水将酶配成 2%溶液，并在 28～32℃下保温 30min。然后加入到乳中，充分搅拌均匀（2～3min）后加盖。

(2) 凝乳的形成　添加凝乳酶后，在 32℃条件下静置 30min 左右，即可使乳凝固达到凝乳要求。

5. 凝块切割

当乳凝固、凝块达到适当硬度时，用刀在凝乳表面切深为 2cm、长 5cm 的切口。用食指斜向从刀口的一端插入凝块中约 3cm。当用手指向上挑起时，如果切面整齐平滑、指上无小片凝块残留且渗出乳清透明时，即可开始切割。

6. 凝块的搅拌及加温

凝块切割后，开始用干酪耙或干酪搅拌器轻轻搅拌。此时凝块较脆弱，应防止凝块碰碎。经过 15min 后，搅拌速度可稍微加快。在干酪槽的夹层中通入热水，使温度逐渐升高。开始时每 3～5min 升高 1℃；当温度升至 35℃时，则每隔 3min 升高 1℃；当温度到达 38～42℃时，停止加热并维持此时的温度。

7. 排出乳清

在搅拌升温的后期、乳清酸度达 0.17%～0.18%时，凝块收缩至原来的一半（豆粒大小），用手捏干酪粒感觉有适度弹性或用手握一把干酪粒，用力压出水分后放开，如果干酪粒富有弹性，搓开仍能重新分散时，即可排出全部乳清。

8. 堆积

将干酪粒堆积在干酪槽中的一端或专用的堆积槽中，上面用带孔木板或不锈钢板压 5～10min，压出乳清使其成块。

9. 加盐

干盐法，在定型前，将所需食盐散布在干酪粒（块）中，添加量为 1%～3%。

10. 成型

压榨，将堆积后的干酪切成砖形或小立方体，装入成型机。

11. 干酪的成熟

将生鲜干酪置于一定温度（10～12℃）和湿度（相对湿度 85%～90%）条件下，经一定时间（3～6 个月）成熟。

六、干酪产率的计算

以每 100kg 脱脂乳所能生产出的水分含量为 80%的凝块质量来计算。

$$\text{产品出品率}=\text{生产出鲜干酪质量}/\text{原料乳质量}\times 100\%$$

考虑到批次间水分含量的差异，将实测出品率校正到水分含量为 40%的出品率。

$$\text{校正出品率}(\%)=\text{实测出品率}\times(100-\text{水分百分含量})/(100-40)\times 100\%$$

七、质量要求

见表 10-15～表 10-17。

表 10-15　益生型契达干酪的感官指标

项　目	要　求
色泽	具有该类产品应有的色泽
组织状态	组织细腻，质地均匀，具有该类产品应有的硬度和质构
滋味及气味	具有该类产品特有的滋味和气味，不得有酸败、发霉等异味，不得有霉变及其他外来污染物

表 10-16　契达干酪的理化指标

项　目	指　标
非脂成分中的水分含量/(g/100g)	49～56
干物质中脂肪含量/(g/100g)	45.0～59.9
蛋白质/(g/100g 成品)	≥30
食盐含量/(g/100g 成品)	1.50～3.00
热量/(kJ/100g 成品)	≥1000
铅(Pb)/(mg/kg)	≤0.5
无机砷/(mg/kg)	≤0.5
黄曲霉毒素 M_1(折算为鲜奶计)/(μg/kg)	≤0.5

注：非脂成分中的水分含量(g/100g)$=\dfrac{\text{干酪中的水分质量(g)}}{\text{干酪总质量(g)}-\text{干酪中的脂肪质量(g)}}\times 100\%$。

表 10-17　契达干酪的微生物指标

项　目	指　标
大肠菌群/(MPN/100g)	≤90
霉菌①/(cfu/g)	≤50
酵母/(cfu/g)	≤50
致病菌(沙门菌、金黄色葡萄球菌)	不得检出

① 不包括霉菌发酵产品。

第十一章　食品机械与设备实验指导

实验一　清洗、分级机械与设备

一、实验目的

1. 了解全自动蛋品清洗分级机各设备的原理、结构及性能。
2. 掌握全自动蛋品清洗分级机的操作方法。

二、实验仪器与设备

闽台牌 MT-100H 全自动蛋品清洗分级机。

三、实验步骤

1. 拆装设备，熟悉全自动蛋品清洗分级机的结构与功能。

（1）整列输送机　　功能：放置蛋品并将六排蛋整列及光透检测。
（2）洗蛋输送机　　功能：蛋品转向并整列成单列及热水（或清洗剂）喷淋。
（3）蛋品清洗　　功能：两道高位一道低位毛刷洗刷。
（4）热风烘干　　功能：用热风烘干蛋品表面的水分。
（5）喷码　　功能：在蛋品外壳表面喷生产日期及批号。
（6）喷油保鲜　　功能：在蛋品外壳表面喷以极薄的保鲜食用油。
（7）蛋品分级　　功能：蛋品进行重量分级并自动计数。
（8）接蛋盘　　功能：接收加工完的蛋品以方便进行收集装箱。

2. 操作方法与注意事项

（1）开机前检查工作

① 本机放置于室内，机器校正、放置平稳并接上地线后，才能启动电源开关，依序开始运转作业。

② 电控箱装有触摸显示屏及指示灯提示运转情况。

③ 本机设有紧急红色按钮开关，如需“紧急”停止作业，按下红色按钮即停。

开机时，将红色按钮按顺时针旋转回位即可重新开机。

（2）电源　先打开机器的电源开关，此时 220V 及 24V 电源指示灯亮，再打开主传动开关、毛刷开关、雾化系统开关、烘干风扇开关、热风系统开关及热水系统开关等。

① 机器没有运转时，检查红色按钮开关是否有打开。

② 温度设定。洗蛋水温度 50～60℃，热风温度 45～55℃。如需改变温度可使用触摸显示屏进行调整设定即可（如不需加热时，可将目标温度调至低于室温即可）。

③ 输送速度设定。通过触摸显示屏设定，最高输送速度可达 10000 粒/h。

本机每次使用前，都要将热风开关和热水开关打开进行 10～15min 的预热。

注意事项：

▲当关闭任意一个开关时，都会引起故障报警的鸣叫，此时只要按下报警消音复位即可解除鸣叫声。

▲热水及热风加热均设有延时保护功能：当热水或热风加热开关关闭时，自吸泵或热风鼓风机将会继续工作一段时间才会停止工作，以保护热水或热风加热器，延长使用寿命。

▲停机时注意：必须等到自吸泵和热风机停止工作时（即延时保护完成），才能断开本机电源。

（3）整列输送

① 将蛋轻放在整列输送机胶辊轮上，蛋品随即滚动前进，并自动进行整列。

② 经灯光照射后，目视检测到不良蛋品时，立即徒手捡出。

③ 排列蛋时，需将蛋放在整列输送机的尾部，注意每排只能放六颗蛋，多余的拿出。

（4）洗蛋输送

① 蛋经交会后经过洗蛋输送机即成单列顺序运转。

② 对蛋品进行热水（或清洗剂）喷淋。

注意事项：

▲喷嘴口如塞住，需拆卸清理后再装上。

▲自吸泵不出水或水流量不足，应检查是否是：滤水网和底阀堵塞；水位太低吸程过高；扬程过高；出水管漏水；自吸泵转向不正确等因素。

（5）蛋品清洗　蛋品经洗蛋输送机进入清洗箱，通过两道高位一道低位毛刷对蛋品进行全方位洗刷。

（6）热风烘干　用热风烘干蛋品外壳表面水分。

（7）喷码　在蛋品外壳喷上生产日期及批号。

（8）喷油保鲜

① 通过雾点生成系统，将食用油雾化成极细微的雾点。当蛋品经过由雾点生成系统所生成的雾区时，雾点将渗入到蛋壳表面细孔中，形成一层极薄的保护膜，从而阻止细菌的侵入，大大延长了蛋品的保质期。

② 油雾的浓度可通过雾化喷油泵后面的调节螺杆来进行调节。

③ 喷油雾过滤网及吸油雾管路上过滤器里的过滤网每 20 天左右清洗一次。

④ 注意喷油泵轴的转向为泵伸出轴一侧看向泵逆时针方向，以保证泵正常工作。

注意事项：

▲喷油泵的润滑机油第一次使用 7 天后更换，以后每周检查一次并加油到喷油泵油箱中间位置。

（9）蛋品分级

① 当蛋品输送至分级区时，蛋品将按已设定好的级别由重到轻依次对应进入各级的接蛋盘区域。

② 蛋品的重量级别可通过磅秤上的调整砝码来进行调整。

③ 本机蛋品重量级别设有七级：壹、贰、叁、肆、伍、陆及柒，并设有计数功能，在触摸显示屏上可查蛋品的总数量和各级蛋品的数量（若第一次生产的数量值没有清零，则系统将会自动将第一次生产的数量累加到第二次生产的数量中）。

④ 蛋品的级别和级数可由用户根据需要进行调整。

四、实验报告

1. 写出单机设备的结构、使用方法及注意事项。

2. 写出整个生产线的操作程序。

实验二　物料混合机械

一、实验目的

1. 了解混合、搅拌及均质装置的工作机理。
2. 掌握操作基本步骤。
3. 熟悉各设备运行正常与非正常的判断方法，了解其维修方法。

二、实验仪器与设备

ZS40 盐水注射机，JB150 搅拌机，HOMG-Q200-P40 均质机。

三、实验步骤

1. ZS40 盐水注射机

(1) 拆装设备　认识由驱动部分、输送部分、注射针架部分、盐水泵等组成设备构件。

(2) 熟悉设备　工作原理：电机、减速机驱动注射针架上下运动，盐水泵将配制好的料水加压经过注射针注入到肉块中，不锈钢输送带传送原料肉，注射好的肉块经输送带送至料车；通过调整注射的压力来改变注射率，把料水定量、均匀、连续地注入到原料肉中。

(3) 操作方法与注意事项

① 关于控制面板（图 11-1）的说明

电源指示：设备接通电源，指示灯亮。表示设备可以正常工作。

泵开：按下此按钮盐水泵工作，同时灯亮。

泵停：按下此按钮盐水泵停止工作，同时灯灭。

注射低速：按下此按钮，注射电机启动并低速运转，同时灯亮。

注射高速：与注射低速相反。

注射停止：按下此按钮注射电机停止，同时灯灭。

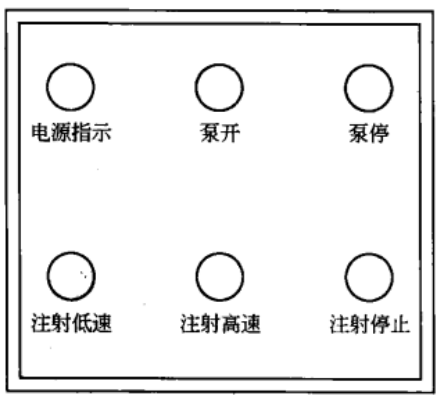


图 11-1　ZS40 盐水注射机控制面板

② 操作程序

a. 按下“注射开”或“注射高（低）速”按钮。

b. 将产品均匀放在输送链条上进行注射（高度应超过工作行程，防止损坏压料部分或降低生产量）。

c. 此时，注射针架上下运动，同时输送带同步前进，启动注射泵。

d. 调整调压阀至所需压力（顺时针旋转调压阀手柄压力减小，反之压力增大）。

e. 将肉块摆放在输送带上进行自动注射，注射后的产品从出料口落入料车中。

③ 清洗

a. 注射完毕关闭设备电源。

b. 拔出输送定位杆，移动出料口定位销，翻转出料口，打开后挡盖，取下输送带部分进行清洗。

c. 重新开机，放入清水，清洗各流经的部位，而后打开蓄能器进行清洗。

d. 关机后，依次序装好设备，清洗其他部位，待用。

注意事项：

▲配制注射液时加入的卡拉胶、蛋白以及其他添加剂必须搅拌均匀，不得有颗料存在，否则容易堵塞注射针孔。

▲盐水泵禁止无水空转。

2. JB150 搅拌机

(1) 拆装设备，熟悉设备结构

① 本机采用单轴螺旋布置的轨迹形桨叶，对物料进行径向搅拌，同时完成轴向回流，使物料得以充分混合均匀，达到理想的混合效果。

② 采用链条传动，既保证了传动比，又减少了振动和噪声，提高了设备运行的稳定性。

③ 主动轴和被动轴采用双轴承固装，提高了主轴的承载能力和疲劳强度。

(2) 操作方法与注意事项

① 接通电源（AC380V±10V），电源指示灯亮。

② 将总停按钮顺时针旋动。

③ 关紧出料门。

④ 加料至要求量。

⑤ 将高速/停/低速按钮置于高速或低速。

⑥ 旋动主轴按钮（中间按钮）正转/停/反转，搅拌达到效果后，旋至停，即停止搅拌。

⑦ 将高速/停/低速按钮旋至高速或低速，将正转/停/反转旋至反转，打开出料门，开始出料。

⑧ 当需真空时，关好上盖打开真空。搅拌完毕，打开充气。充气结束开门出料。

⑨ 在发生紧急情况时，按下急停按钮，整机断电。

注意事项：

▲开机前，首先需检查料箱内是否有异物。

▲严禁开机清洗料箱。

3. HOMG-Q200-P40 均质机

(1) 拆装设备　了解高压均质机由高压泵、均质阀、机体、机座、曲轴及液压系统等构成，如图 11-2 所示。

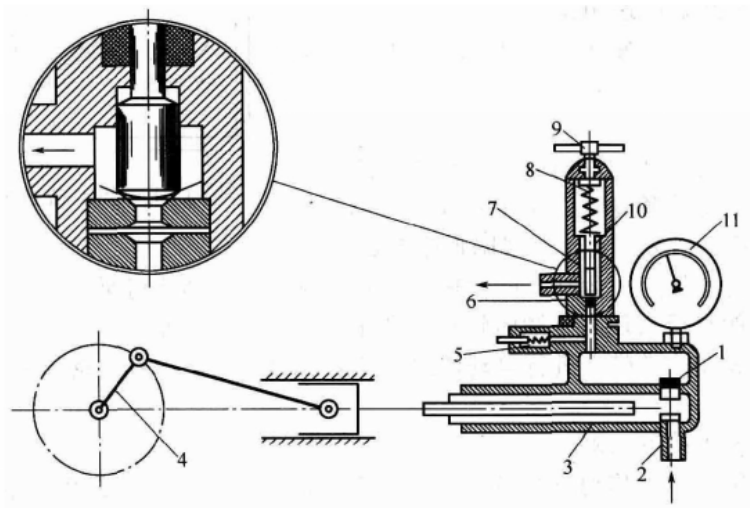


图 11-2　高压均质机的结构简图

1—压出阀；2—吸入阀；3—三柱塞泵；4—曲柄连杆机构；5—安全阀；6—阀座；7—均质阀；8—弹簧；9—螺杆手柄；10—均质头；11—压力表

（2）熟悉设备基本工作原理　如图 11-3 所示。料液以很高速度通过均质阀缝隙处时受到强烈剪切作用而均质和乳化。通过缝隙为 0.1mm 时，液流的流速高达 150～200m/s。

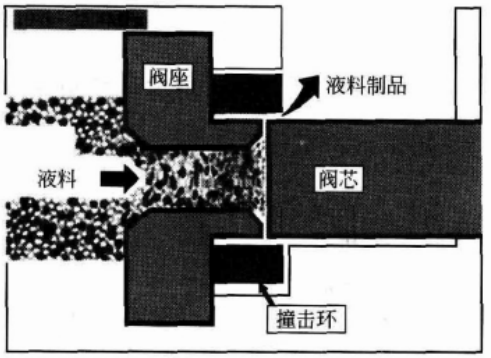


图 11-3　高压均质机工作原理

通过缝隙时，由于受到压力的作用，使脂肪球在缝隙处被拉伸和延展，同时又受到流液通过均质阀时的涡动作用，使延展部分被剪切为更细小的脂肪球微粒。

此外，料液中存在着表面活性物质和卵磷脂及胆脂，它们围绕在更细小的脂肪微粒外层，形成一种使这些微粒不再相互黏合的膜，从这里不断离开。

（3）操作方法与注意事项

① 清洗与消毒

a. 将均质阀及其相关管路全部拆下，用温水洗净。

b. 各零部件用 65℃热碱水刷净，再用温水冲洗干净。

c. 洗净的零件及机身用蒸汽直接喷射一遍。

d. 开动电动机，将 200kg 左右沸水吸入均质机，进行 10min 循环灭菌。

e. 最后排除积水。

② 操作

a. 启动前，检查各零部件是否有卡阻或松动现象，油箱内油压是否正常，并接通冷却水路。检查电气装置。

b. 检查无误后，点动一下，核对大带轮的转动方向，打开进出料管阀门。

c. 启动电动机，经进水放气后，调整各处压力至正常值。

d. 运转一段时间，确认正常后，即可正式运行。

e. 停车前，放松压力调节阀，降低压力，然后关闭电动机。

f. 待泵停止工作后，再关闭进出料阀门。

g. 停机后，立即用温水、碱水循环清洗，再用 90℃热水消毒 10min。

四、实验报告

1. 分析上述三种物料混合机械各有何特点，并说出它们的应用范围。

2. 请写出 HOMG-Q200-P40 均质机的结构、工作原理、使用操作及注意事项。

实验三　包装机械

一、实验目的

1. 掌握全自动侧封液体软包装机的工作原理及使用操作。

2. 掌握全自动塑杯灌装封口机的工作原理及使用操作。

3. 掌握真空包装机的工作原理及使用操作。

二、实验仪器与设备

SSY-2 全自动侧封液体软包装机 1 台；YRJ-3 型全自动塑杯灌装封口机 1 台；DZ-600/2S 型真空包装机 1 台。

三、实验步骤

1. SSY-2 全自动侧封液体软包装机

(1) 拆装设备　熟悉设备构造与功能。

(2) 工作原理　本设备的工艺流程为：薄膜卷—紫外线杀菌—薄膜成型—竖封—进给—灌装—横封切断—成品。

本设备由主轴动力传动、薄膜输送进给、成型、灌装、横封、竖封、电器和机体八个部分组成，所有传动机构和电器控制的凸轮组均安装在主轴上，主轴旋转一周为一个工作循环，有效保证了各系统工作的协调性。

① 主轴动力系统。本设备由一台 0.37kW 电机组合 1/43 的针型摆线齿轮减速机，通过链条使主轴旋转而带动各自的机构工作，主轴上包括主轴链轮、横封凸轮、竖封凸轮、伞齿轮、调整袋长凸轮、停车在零位凸轮。

② 薄膜输送进给系统。在设备侧面膜架上安放有薄膜卷，薄膜上行经过导辊进入成型器和进给胶轮，两对胶轮成对地装在进给主动轴与从动轴上，主动轴由装有电磁离合器的链轮带动。同装在主轴上的电器凸轮和接近开关控制电磁离合器的开启、闭合，当电磁离合器通电啮合时，带动两对进给胶轮向下输送一个包装袋长的薄膜；当电磁离合器断电脱开，电磁制动器同时通电抱死主动轴，两对胶轮立即停止转动，薄膜停止输送，以便横、竖封头热封。

③ 热封系统

a. 竖封：位于设备前部工作区上方的竖封头，依靠主轴上的竖封凸轮、拉杆轴和弹簧来回拉动而闭合，弹簧压紧竖封头打开，依靠弹簧的弹力进行竖封的封口，竖封头内装有 500W 电热管，由温控仪进行控制加热温度。

b. 横封：横封头位于前部工作区的下方，是由横封凸轮、横封拉杆轴、弹簧、缓冲胶垫等组成，拉杆轴前进闭合，弹簧压紧封头闭合封口，反之则打开。横封头内装有 500W 电热管，由温控仪进行控制加热温度，横封头将薄膜切断，同时完成封接（即封上口袋的口，同时也是封下口袋的底）。

(3) 操作方法与注意事项　本设备是全自动包装机型，它要求操作者对全机结构及工作原理有较全面的了解，必要时须掌握设备的使用、维护、清洗消毒等操作规程。

① 开机前的检查

△ 检查电、物料是否接通，接地线是否牢固。

△ 检查各部分的润滑情况。

△ 检查横竖封头上聚四氟乙烯布是否完好（无烧焦现象）。

△ 检查仪表板所有开关是否都处在关闭位置。

② 装入薄膜卷

△ 装入膜卷，穿过各滚轴，到达成型顶端；进入成型中，薄膜从成型器穿过。

△ 打开进给横梁，拉下薄膜直到进给胶轮的下方，两对胶轮对称夹住折叠后的薄膜。

③ 横、竖封升温

△接通横、竖封开关，横、竖封温控仪应工作，升温指示灯应亮，调整竖封预置温度在140℃、横封温度在200℃，后竖封与后横封大约调在80℃左右，此时温控仪的绿色指示灯应亮。当温度升到预置的温度后，绿灯灭，红灯亮。可开机工作。

④ 开机操作。接通“工作”开关，横、竖封开关，接通“进给”开关制袋开始工作，此时检查袋的质量，合格后可接通“灭菌”开关并打开灌装阀门，开始灌装，调整灌装量以达到合适的重量（或容积）。工作结束时关闭阀门和所有开关。

2. YRJ-3 型全自动塑杯灌装封口机

（1）拆装设备，熟悉设备构造与功能　生产杯装饮品，除手工操作上杯及手工分水头球阀外，其余从灌装输送盖膜、打印日期、封盖、切膜、残膜纸收卷到卸杯等工序流程均为自动控制。

（2）熟悉工作原理

① 机身结构。机架采用角钢焊接结构，传动系统均为封闭式，灌装处设有接水盘，水液可直接排出机身，设备不受潮湿和污染，机身下部有四个落地螺栓，可调整水平位置，移动时可提起螺栓，脚轮落地随意搬运。

② 主要传动及输送机构。电机、减速器、齿轮拨轮由马式盘机构实现间歇步送，经单链条传送主轴上，由双排链条带动杯座板进行循环运动，实现每分钟16步位，完成灌装、封盖、切盖等工序，单链条设有张紧轮装置，双排链条设有前后轴承座，调整松紧度，用螺栓进行调整，台面前后装有输送收卷机构。

③ 灌装系统。由水泵连接输料分水头经球阀调节水量，回转喷嘴，经杯座步进，自动移位注料，传动90°位置，实现灌装流量多少可由球阀调节控制。

④ 封切机构。该机构装有打印日期、加热封头封压模板、切膜刀等装置，经偏心轮连杆带动封切机构，完成升降运动的三个功能程序。封好、切好的杯装饮品由起杯板卸落，产量计数器显示，即完成生产全过程。

（3）操作方法与注意事项　该设备为自动控制，除灌装流量由球阀调整控制外，旋钮开关均由电气控制开关操纵。不需专业培训，操作使用时应注意以下几点。

① 接通电源，接好安全地线，以保证设备和操作者安全。

② 接通电源后，打开电源开关，首先打开加温开关，温控，调整适宜的温度（一般在150～250℃之间），用户可视生产情况自行选定。热封温度大约20min左右即可达到调定温度。

③ 将膜盖纸卷筒置于模架上，拉出一段引入封切机构下方，随封盖、切盖的运行，将残纸的端头缠在后卷轴架上，废膜纸即可自动收卷。

④ 启动电机设备运转，将塑料杯放入装杯模板内，打开并调定好灌装系统的阀门开启手柄，使设备在杯座间歇传送过程中的停顿状态下灌满塑杯。

⑤ 做好上述调整准备工作后，打开杀菌灯、接通计数器设备即开始运转进行正常生产。

3. DZ-600/2S 型真空包装机

适用于各种塑料复合薄膜袋或铝箔复合薄膜袋，对各类生熟食品、果品、药材、化学品、精密仪器、服装、五金产品、电子元器件等各种固体、粉状物体、流体进行真空包装。

（1）拆装设备，熟悉结构与功能　主要由上工作室、下工作平台、机架、电气系统、真空系统五大部分组成，如图11-4所示。

（2）工作原理　首先合盖，真空泵从工作室抽气，当达到预定真空度时，真空泵停止工作，加压阀打开，气囊充气，压条向下压紧封口处，同时通电加热，包装袋封口完毕后放气阀通电打开，自动放气开盖完成一次工作循环。

（3）操作方法与注意事项

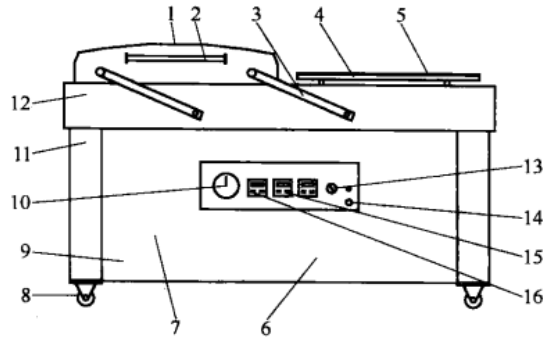


图 11-4　整机结构图

1—上工作室；2—手把；3—连杆；4—封口支撑槽；5—包装袋压条；6—真空泵（机器内部）；7—拉簧（机器内部）；8—脚轮；9—螺旋扣（机器内部）；10—真空表；11—架体；12—下工作平台；13—温度控制；14—电源开关；15—加热控制；16—抽气控制

① 使用前的准备

a. 机器放置平稳，查看合盖是否顺利，松手后是否自动跳起，全自动设备除外。否则调整左右螺旋扣。

b. 配备适应机型要求的电源。

c. 查看真空泵油面的位置是否正确，如不正确应调整。

d. 将本机良好接地。

e. 接通电源，打开电源开关，合盖，查看真空泵运转是否正常（如不抽气，很可能真空泵电机反转，应调换三相电源线中的任意两相线）。

② 使用前的调整

a. 选择真空度：抽气时间为 0～99.9 秒，数显式连续可调小型真空机，抽气时间为数字旋转式 0～60s 可调。调整抽气时间的长短，从而达到所需真空度。

b. 选择加热温度：根据包装袋材料选择所需加热温度，将加热温度旋钮调到相应位置，高或中或低。

c. 调整加热时间：加热时间 0～9.99 秒数显式连续可调。根据所用包装材料及加热温度，调整加热时间旋钮，选择合适的加热时间（小型真空机数字旋转式 0～5s 可调）。

d. 根据需要选定封口硅橡胶条口的硅胶字，设定封口日期等字符。

③ 使用。

a. 打开电源开关。

b. 将包装袋压条翻开，把装入被包装物品的包装袋（物品至袋口部不得小于 4cm）放入工作室内，将封口处平整地放于硅橡胶条上，袋子不要重叠，翻过包装袋压条将包装袋口部压好。

c. 握住手把（或按上盖边缘）下压上工作室。合盖，则本机将按程序自动完成真空包装过程并自动开盖，部分设备配备有急停开关。

d. 翻开包装袋压条，取出包装袋，即完成一次工作循环。

e. 停止工作时需关上电源开关，拔出电源插头。

④ 全自动真空包装机除作以上准备外，还需做以下两点。

a. 根据设备上工作室自动运转的速度及操作工人的工作速度，调整设备面板上的速度调节时间继电器（时间加长或缩短）。

b. 本设备设有紧急停车开关，如有特殊情况按下此开关，上盖自动开启处在正上方，待

情况排除，打开急停开关，把上盖推向工作一方，设备进入正常工作状态。

四、实验报告

1. 上述三种包装机械各有何特点以及它们的应用范围。
2. 真空包装机的结构、工作原理、使用操作及注意事项。

实验四　焙烤机械

一、实验目的

1. 了解掌握和面机、压面机的拆装程序。
2. 掌握典型焙烤机械的工作原理、结构与使用操作。

二、实验仪器与设备

BH25 和面机，YJ-88 压面机，远红外线食品电烘炉以及拆装工具 1 套。

三、实验步骤

1. 拆装 BH25 和面机，YJ-88 压面机，PL-4 远红外线食品电烘炉。

2. BH25 和面机

（1）主要结构　由机架、和面斗、搅拌器、减速箱、电动机、皮带轮及电器控制等部分组成。

（2）基本工作原理　由于搅拌器的转动，使面粉和水在和面斗中先形成小团粒，然后互相黏结形成大面团块，随着搅拌器在面斗中对面团的折叠、压延、拉抻及揉和等过程，就得到了均匀混合的面团。

（3）操作方法与注意事项

① 使用前应将定位销插牢，使面斗翻朝上，推开盖板，放入面粉，把开关旋至正转（槽轮旋转方向与皮带罩子所标箭头方向一致），边和面边加水，加至适量后拉上盖板和面 6～10min（视用户需要而定），将开关旋至“停”位置，推开盖板，拔出定位销，使面斗口朝前翻倒，将定位销插牢，然后将开关旋至反转，使和好的面转至方便取放的位置，停机，和面结束，使面斗口朝上，并将定位销插牢。

② 和面机使用时要注意电机旋转方向与皮带罩子上所标箭头方向必须一致，方可进行和面，如不一致，则应将电源进线的其中两相对调，使其旋转方向一致。避免内部控制线路紊乱，失去翻斗控制而损坏机器零件，和面时推开面斗遮板，放入面粉，按“开”按钮，使浆板旋转，和面 10min 左右（按用户需要而定）。面和好后按“停”按钮，浆板停止旋转。

3. YJ-88 压面机

（1）结构　主要由压辊、刮板、调节杆、接面盘、倒顺开关、电机、调节手轮、安全帘、防护罩、进面斗等部分组成。

（2）操作方法

① 机器开启前，应仔细检查进面斗中及压辊之间有无铁器、硬物。

② 用手转动机器上的调节手轮，调节好所需要的压面厚度，然后合上电源开关，确认无异常声音后，方可使用。

③ 将和面机和好的面团（一般每块在 3～15kg）放入进面斗中，从接面盘中取出被压过的面饼，对折后，放回进面斗中再次滚压。压面次数视制作食品种类自定。

④ 机器正常运转中，严禁用手直接推面并且不准打开或拆下安全帘。

⑤ 机器停止使用时，需断开电源开关。将各部位的余面清理干净，以免干结，影响下次使用，同时确保饮食卫生。

(3) 注意事项

① 机器的启、停由装置在机器上的倒顺开关控制，且还应设置进户电源总闸。

② 为确保安全，使用前，拉开电闸，脱离电源后，方可进行拆卸或清理。

③ 若发现机器有异常问题，则应停机检修，以免其他零部件受损。

4. PL-4 远红外线食品电烘炉

(1) 应用　用于面包、糕点、西饼的烘焙制作，也可用于肉类等食品的烤制及加热工作。

(2) 操作方法与注意事项

① 先将烘炉电源插头插入电源插座，将控制面火、底火的温控仪旋钮分别旋至所要求温度。

② 分别按下面火和底火开关，烘炉即开始工作，此时温控仪上绿色指示灯亮，红色指示灯处于熄灭状态。当面火和底火达到设定温度后，即自动进入恒温状态，此时，温控仪上绿色指示灯熄灭，红色指示灯亮。按下“停止”键，烘炉停止工作。

四、实验报告

1. 写出 BH25 和面机、YJ-88 压面机的拆装程序。

2. 写出典型的焙烤机械适用范围、结构、工作原理、使用操作及注意事项。

第十二章　食品工程原理课程设计指导

一、课程设计的目的

通过食品工程原理课程设计教学环节，使学生在掌握理论知识的基础上，学会有关换热器、流化床干燥装置等单元操作的设计基本方法和基本步骤，增强学生分析问题以及综合设计的能力。

二、课程设计的基本要求

1. 要求学生能够独立进行设计选题及其论证。

2. 要求学生根据设计内容的基本要求，能分析相关单元操作的装置的结构特点、工艺特征等特定条件，并确定设计方案。

3. 要求学生能够准确使用相应工具书，完成设计计算、设计图纸的绘制以及设计说明书的撰写工作。

三、课程设计的示例——列管式换热器设计

1. 设计题目

精馏塔配套井水冷却器的设计。

2. 设计任务及操作条件

(1) 设计目的及其设计要求

① 选用井水作为冷却介质以冷却精馏塔的釜残液，入口温度为 30℃，出口温度为 40℃。

② 要求换热器的管程和壳程压力降不大于 50kPa。

③ 试设计两流体均无相变的标准列管式冷却器。

(2) 已知设计条件与参数

① 釜残液为腐蚀性的有机液体，流量为 2.16×10^4kg/h，温度由 102℃冷却到 40℃。

② 釜残液在平均温度下的物性数据如下：密度为 986kg/m^3，黏度为 0.54×10^{-3}Pa·s，比热容为 4.19kJ/(kg·℃)，导热系数为 0.662W/(m·℃)。

3. 设计关键步骤

(1) 试算并初选换热器的规格

① 确定流体通入的空间。由于釜残液为腐蚀性介质，适于料液于管内空间，而将冷却水通入壳程空间。

② 确定流体的定性温度、物性数据，并选择列管式换热器的型式。

根据设计要求，有关流体的定性温度和物性数据计算结果如表 12-1 所示：釜残液的定性温度 $T_m=71$℃，水的定性温度 $t_m=35$℃，两流体温差 $T_m-t_m=71-35=36$℃。由于两流体温差不大于 50℃，故选用固定管板式换热器。

③ 热负荷 Q 的计算。按管内釜残液计算，即

$$Q=W_hC_{ph}(T_1-T_2)=\frac{2.16\times10^4}{3600}\times4.19\times10^3\times(102-40)=1.56\times10^6\text{W}$$

若忽略换热器的热损失，水的流量可由热量衡算求得，即

表 12-1　流体的定性温度、物性数据

物性 / 流体	温度/℃	密度 ρ /(kg/m³)	黏度 μ /mPa·s	比热容 C_p /[kJ/(kg·℃)]	导热系数 λ /[W/(m·℃)]
水	35	994	0.728	4.174	0.626
釜残液	71	986	0.54	4.19	0.662

$$W_C=\frac{Q}{C_p(t_2-t_1)}=\frac{1.56\times10^6}{4.174\times10^3\times(40-30)}=37.4\text{kg/s}$$

④ 平均温差的计算，并确定壳程数。

$$\text{逆流温差}\quad \Delta t'_m=\frac{(102-40)-(40-30)}{\ln\dfrac{102-40}{40-30}}=28.5℃$$

$$R=\frac{T_1-T_2}{t_2-t_1}=\frac{102-40}{40-30}=6.2$$

$$P=\frac{t_2-t_1}{T_1-T_2}=\frac{40-30}{102-30}=0.139$$

由 R 和 P 数值查工具书中的单壳程的对数平均温差校正系数 $\varphi_{\Delta t}=0.82$，由于 $\varphi_{\Delta t}=0.82>0.8$，所以本设计可选用单壳程的列管式换热器，并代入公式计算：

$$\Delta t_m=\varphi_{\Delta t}\Delta t'_m=0.82\times28.5=23.4℃$$

⑤ 初选换热器规格。根据管内有机液体，管外为水，K 值范围为 280～850W/(m²·℃)。

则初选 $K_0=600\text{W/(m}^2\cdot℃)$，故初选固定管板式换热器规格尺寸为：壳径 $D=600\text{mm}$，公称面积 $S=110\text{m}^2$，管程数 $N_P=4$，管数 $n=242$，管长 $L=6\text{m}$，管子直径 $=\phi25\text{mm}\times2.0\text{mm}$（不锈钢管），管子排列方法为正三角形。换热器的实际传热面积计算为：

$$S_0=n\pi d_0(L-0.1)=242\times3.14\times0.025\times5.9=112.1\text{m}^2$$

则本设计的换热器要求的总传热系数为

$$K_0=\frac{Q}{S_0\Delta t_m}=\frac{1.56\times10^6}{112.1\times23.4}=595\text{W/(m}^2\cdot℃)$$

(2) 核算总传热系数 K_0

① 计算管程对流传热系数 α_i。

因为：

$$W_h=2.16\times10^4\text{kg/h}\qquad V_h=\frac{W_h}{\rho}=\frac{2.16\times10^4}{986}=21.9\text{m}^3/\text{h}$$

$$A_i=\frac{n}{4}\times\frac{\pi}{4}d_i^2=\frac{242}{4}\times0.785\times0.021^2=0.02094\text{m}^2$$

$$u_i=\frac{V_s}{A_i}=\frac{21.9}{3600\times0.02094}=0.291\text{m/s}$$

$$R_{ei}=\frac{d_i\mu_i\rho}{\mu}=\frac{0.021\times0.291\times986}{0.54\times10^{-3}}=1.116\times10^4\ \text{(湍流)}$$

$$P_{ri}=\frac{C_p\mu}{\lambda}=\frac{4.19\times10^3\times0.54\times10^{-3}}{0.662}=3.42$$

所以：$\alpha_i=0.023\dfrac{\lambda}{d_i}R_e^{0.8}P_r^{0.3}$（液体被冷却）

则：$\alpha_i=0.023\times\dfrac{0.662}{0.021}\times(1.116\times10^4)^{0.8}\times(3.42)^{0.3}=1814\text{W/(m}^2\cdot℃)$

② 计算壳程对流传热系数 α_0。计算换热器中心附近管排中流体流通截面积为：

$$A_0=hD\left(1-\frac{d_0}{t}\right)=0.3\times0.6\times\left(1-\frac{0.025}{0.032}\right)=0.0394\text{m}^2$$

式中，h 表示折流挡板间距，取 300mm；t 表示管中心距，对 ϕ25mm×2.0mm 的管子，t=32mm。

因为 W_c=37.4kg/s，所以 $V_s=\frac{W_c}{\rho}=\frac{37.4}{994}=0.0376\text{m}^3/\text{s}$，

$$\mu_o=\frac{V_s}{A_o}=\frac{0.0376}{0.0394}=0.954\text{m/s}$$

由正三角形排列，得到：

$$d_e=\frac{4\left(\frac{\sqrt{3}}{2}t^2-\frac{\pi}{4}d_0^2\right)}{\pi d_o}=\frac{4\left(\frac{\sqrt{3}}{2}\times0.032^2-0.785\times0.025^2\right)}{3.14\times0.025}=0.0202\text{m}$$

$$R_{eo}=\frac{d_e\mu_o\rho}{\mu}=\frac{0.0202\times0.954\times994}{0.728\times10^{-3}}=2.63\times10^4$$

因为：R_{eo} 在 $2\times10^3\sim1\times10^6$ 范围内，所以可以按照下式计算 α_0

$$\alpha_0=0.36\frac{\lambda}{d_e}(R_{eo})^{0.55}(P_{\gamma o})^{\frac{1}{3}}\varphi_\mu$$

$$P_{\gamma o}=\frac{C_p\mu}{\lambda}=\frac{4.174\times10^3\times0.728\times10^{-3}}{0.626}=4.85$$

液体被加热，可取 φ_μ=1.05，则

$$\alpha_o=0.36\frac{0.626}{0.0202}(2.63\times10^4)^{0.55}(4.85)^{\frac{1}{3}}\times1.05=5349\text{W/(m}^2\cdot\text{℃)}$$

③ 确定污垢热阻

$$R_{si}=1.72\times10^{-4}\text{m}^2\cdot\text{℃/W(有机液体)}$$

$$R_{so}=2.0\times10^{-4}\text{m}^2\cdot\text{℃/W（井水）}$$

④ 总传热系数 K_0

$$K_0=\frac{1}{\frac{1}{\alpha_o}+R_{so}+\frac{bd_o}{\lambda_w d_m}+R_{si}\frac{d_o}{d_i}+\frac{d_o}{\alpha_i d_j}}$$

由于釜残液具有腐蚀性，管子材料选用不锈钢，取其导热系数

$$K_0=\frac{1}{\frac{1}{5349}+0.0002+\frac{0.002\times25}{16.5\times23}+0.000172\times\frac{25}{21}+\frac{25}{1814\times21}}=\frac{1}{0.00138}=725\text{W/(m}^2\cdot\text{C)}$$

选用该换热器时，要求过程的总传热系数为 595W/(m²·℃)，在传热任务所规定的流动条件下，计算出的 K_0=725W/(m²·℃)，所选择的换热器的安全系数为：$\frac{725-595}{595}\times100\%=21.8\%$，则该换热器传热面积的裕度符合要求。

(3) 计算管程、壳程的压力降

① 计算管程压力降

$$\sum\Delta_{pi}=(\Delta_{p1}+\Delta_{p2})F_tN_pN_s$$

前以算出：μ_i=0.291m/s，$R_{ei}=1.116\times10^4$（湍流）

取不锈钢管壁粗糙度 ε 为 0.1mm，则 $\frac{\varepsilon}{d}=\frac{0.1}{21}=0.00476$，由摩擦系数图查得 λ=0.037，所以：

$$\Delta_{p1}=\lambda\frac{L}{d_i}\frac{\rho\mu_i^2}{2}=0.037\times\frac{6}{0.021}\times\frac{986\times(0.291)^2}{2}=441\text{Pa}$$

$$\Delta_{p2}=3\times\frac{\rho\mu_i{}^2}{2}=3\times\frac{986\times(0.291)^2}{2}=125\text{Pa}$$

对于 ϕ25mm×2.0mm 的管子 $F_t=1.4$，且 $N_p=4$，$N_s=1$，

所以 $$\sum_{pi}=(441+125)\times1.4\times4=3170\text{Pa}$$

② 计算壳程压力降

$$\sum\Delta_{po}=(\Delta'_{p1}+\Delta'_{p2})F_sN_s \quad \text{其中 } F_s=1.15,\ N_s=1$$

$$\Delta'_{p1}=Ff_on_c(N_B+1)\frac{\rho\mu_o{}^2}{2}$$

管子为正三角形排列，取 $F=0.5$，则 $n_c=1.1\ (n)^{1/2}=1.1\times(242)^{1/2}=17$

折流板间距 $h=0.3$m，折流板数 $N_B=\frac{L}{h}-1=\frac{6}{0.3}-1=19$

$$A_o=h(D-n_cd_o)=0.3(0.6-17\times0.025)=0.0525\text{m}^2$$

$$\mu_o=\frac{V_s}{A_o}=\frac{0.0376}{0.0525}=0.716\text{m/s}$$

$$R_{eo}=\frac{d_o\mu_o\rho}{\mu}=\frac{0.025\times0.716\times994}{0.728\times10^{-3}}=2.44\times10^4>500$$

$$f_o=5R_{eo}^{-0.228}=5\times(2.44\times10^4)^{-0.228}=0.4996$$

(4) 综合分析

因为 $$\Delta'_{p1}=0.5\times0.4996\times17\times(19+1)\frac{994\times(0.716)^2}{2}=2.164\times10^4\text{Pa}$$

$$\Delta'_{p2}=N_B\left(3.5-\frac{2h}{D}\right)\frac{\rho\mu_o{}^2}{2}=19\left(3.5-\frac{2\times0.3}{0.6}\right)\frac{994\times(0.716)^2}{2}=1.21\times10^4\text{Pa}$$

$$\sum\Delta_{po}=(2.164\times10^4+1.21\times10^4)\times1.15=3.88\times10^4\text{Pa}$$

所以从计算结果可知，本设计的换热器管程与壳程的压力降满足题设要求，故所选换热器合适。

四、课程设计的选题示例

1. 换热器设计的选题示例

(1) 煤油冷却器的设计

① 设计题目：煤油冷却器的设计。

② 设计任务

处理能力：19.8×10^4t/年煤油。

设备型式：列管式换热器。

③ 操作条件

煤油：入口温度 140℃，出口温度 40℃；

冷却介质：自来水，入口温度 30℃，出口温度 40℃；

允许压力降：不大于 10^5Pa；

煤油定性温度下的物性数据：密度为 825kg/m^3，黏度为 7.15×10^{-4}Pa·s，比热容为 2.22kJ/(kg·℃)，导热系数为 0.14W/(m·℃)。

每年按 330 天计，每天 24h 连续运行。

④ 设计项目　选择适宜的列管式换热器并进行核算。

(2) 正戊烷冷凝器的设计

① 设计题目：正戊烷冷凝器的设计。

② 设计任务

处理能力：2.376×10^4 t/年正戊烷。

设备型式：立式列管换热器。

③ 操作条件

正戊烷：冷凝温度 51.7℃，冷凝液于饱和温度下离开冷凝器；

冷却介质：井水，流量 7000kg/h，入口温度 32℃；

允许压力降：不大于 105Pa；

每年按 330 天计，每天 24h 连续运行。

④ 设计项目　选择适宜的列管式冷凝器并进行核算。

(3) 煤油换热器的设计

① 设计题目：煤油换热器的设计。

② 设计任务

处理能力：2.2176×10^4 t/年煤油。

设备型式：锯齿形板式换热器。

③ 操作条件

煤油：入口温度 100℃，出口温度 40℃；

冷却介质：循环水，入口温度 30℃，出口温度 50℃；

允许压力降：不大于 5×10^5 Pa；

每年按 330 天计，每天 24h 连续运行。

④ 设计项目　选择适宜的锯齿形板式换热器并进行核算。

(4) 甲苯加热器的设计（卧式）

① 设计题目：甲苯加热器的设计。

② 设计任务

设备型式：卧式列管换热器

③ 操作条件

甲苯：入口温度 20℃，出口温度 100℃，甲苯的流量为 9×10^4 kg/h。

加热介质：200kPa 饱和水蒸气；冷凝液在饱和温度下排除；

要求换热器的管程压力降小于 70kPa。

④ 设计项目　选择适宜的卧式列管换热器并进行核算。

(5) 甲苯加热器的设计（板式）

① 设计题目：甲苯加热器的设计。

② 设计任务

设备型式：板式列管换热器。

③ 操作条件

油：入口温度 70℃，出口温度 40℃，油的流量为 12000kg/h；

冷却介质：用 20℃的冷水（取工业硬水），水的流量为 2000kg/h；

油侧与水侧的允许压力降均小于 2×10^5 Pa。

油在定性温度下的物性数据为 $P_h=850$kg/m^3，$\mu_h=0.12$W/(m·℃)

$C_{ph}=1.8$kJ/(kg·℃)，$\lambda_h=0.12$W/(m·℃)。

④ 设计项目　选择适宜的板式换热器并进行核算。

2. 干燥装置设计的选题示例

(1) 气流和单层流化床联合干燥装置的设计

① 设计题目。散料状的食品物料最初含水量为 22%，欲在气流干燥器中干燥至 10%后，

再在单层流化床干燥器中干燥至0.5%（以上均为湿基含水量）。

② 操作条件

生产能力（按进料量计）：12690kg/h。

物料含水量（湿基）：$\omega_1=22\%$；$\omega_2=0.5\%$。

湿物料的温度 $\theta_1=20℃$；离开流化床干燥器 $\theta_2=120℃$。

颗粒直径：平均颗粒 $d_m=0.3mm$。

干燥介质：烟道气（其性质与空气同），初始湿度 $H_1=0.01kg$ 水/kg 干气；入口温度 $t_1=800℃$；废气温度 $t_2=125℃$（两种干燥器出口温度相同）。

操作压力：常压。

设备工作日：每年330天，每天24h连续运行。

③ 设计基础数据。物料干料比热容 C_s 0.712kJ/(kg·℃)；固相密度 ρ_s 2000kg/m³；假设物料中除去的全部为非结合水。

分布板孔径选择 $d_o=5mm$；流化床干燥器卸料口直接接近分布板。

干燥介质的物性常数可按125℃空气查取。

干燥器的热损失为有效传热量的15%。

④ 设计项目。干燥器主体工艺尺寸计算及结构设计；辅助设备的选型及核算。

(2) 卧式多室流化床干燥装置的设计

① 设计题目。试设计一台卧式多室连续流化床干燥器，用于干燥颗粒状肥料，将其含水量从0.04干燥至0.004（干基），生产能力（以干燥产品计）为3000kg/h。

② 操作条件

干燥介质：热空气，初始湿度 H_o 可预先设定选取；预热器入口温度 t_o 自定；离开预热器温度 $t_1=80℃$。物料入口温度 $\theta_1=30℃$。

加热介质为饱和蒸汽，压力自定。

操作压力：常压。

设备工作日：每年330天，每天24h连续运行。

③ 设计基础数据。物料颗粒平均粒径 d 0.14mm；固相密度 ρ_s 1730kg/m³；堆积密度 ρ_b 800kg/m³；临界湿含量 X_o 0.013（干基）；干物料比热容 C_s 1.47kJ/(kg·℃)。物料静床层高度 Z_o 0.15m。干燥装置热损失为有效传热量的15%。

④ 设计项目。干燥器主体工艺尺寸计算及结构设计；辅助设备的选型及核算。

五、课程设计报告格式及其撰写要求

食品工程原理课程设计报告

学生姓名		学号	
专业班级		指导教师	
设计题目			
报告正文	课程设计的报告包含三部分的内容 第一部分：有关设计选题的背景与选题意义的论述 第二部分：设计方案及其拟实现的目标 第三部分：设计计算、设计图纸的CAD绘制、撰写设计说明书 附：工具书与参考文献目录		
指导教师评语			
成绩评定			

第十三章　食品工厂设计与环境保护课程设计指导

一、课程性质、目的与任务

《食品工厂设计与环境保护》课程设计是食品科学与工程专业学生的专业实践环节，使学生完成综合性基本训练，最终能绘制一张总平面布置图、一套生产工艺设备流程图和生产车间设备工艺布置图，具备食品生产工厂总平面布置、设备选型以及工艺流程设计的能力。

通过绘制总平面布置图，使学生了解食品工厂总平面布置的组成，熟悉各功能部门的相互关系，掌握总平面布置的要求及注意事项。

通过绘制生产车间设备布置，使学生了解食品工厂生产车间设备布置的工作过程，熟悉各专业的相互关系，掌握生产车间设备布置的要求、工作内容及注意事项。

二、教学基本要求

1. 掌握食品工厂基本建设的程序、要求，能够绘制食品工厂总平面布置。
2. 掌握生产车间工艺设计流程图的设计与绘制。
3. 掌握生产车间设备选型与工艺流程的设计及工艺流程图的绘制。

三、设计步骤

1. 确定设计题目，题目应包含生产规模及其主要产品。
2. 产品方案的确定。
3. 确定主要产品工艺流程。
4. 物料衡算。
5. 总平面设计。
6. 生产车间设备选型与配套。
7. 生产车间设备布置。
8. 管路计算与设计。
9. 绘制设计图纸。
10. 撰写设计说明书。

四、课程设计报告格式与其撰写要求

食品工厂设计与环境保护课程设计报告

学生姓名		学号	
专业班级		指导教师	
设计题目			

续表

设计报告正文	本课程的设计报告包括两部分 第一部分：图纸的设计与绘制 1. 总平面设计图　1张　A2或A1纸 2. 设备工艺流程图　1张　A2或A1纸 3. 生产车间设备布置图　1张　A2或A1纸 4. 生产车间管路平面布置图　1张　A2或A1纸 第二部分：设计说明书的撰写 目录 第一章　总论 第二章　总平面布置及运输 第三章　劳动定员 第四章　车间工艺 第五章　管道设计 第六章　项目经济分析 附：参考文献目录
指导教师评语	
成绩评定	

第十四章　食品科学与工程专业认识实习指导

一、实习课程的目的

《食品科学与工程专业认识实习》的授课对象为食品科学与工程专业二年级本科生，属于专业实践教学环节，是在讲授食品加工的原材料、加工工艺、产品质量控制、产品贮运等食品工艺学教学内容之前开展的。本实践环节的教学目的是通过参观水果、蔬菜、水产、禽蛋、粮油等食品原料批发市场、食品工艺实验室、肉制品生产企业、啤酒生产企业、软饮料生产企业、冷饮厂等，旨在给学生以各类食品加工过程、工艺和设备等的初步感性认识；加深学生对罐藏加工、果蔬加工、动物性食品加工、食品贮藏保鲜、饮料加工工艺、焙烤与糖果工艺等方面的了解，提高学生学习兴趣，也为学生学习专业基础课和专业课奠定基础，同时提高学生的综合素质。

二、实习课程的基本要求

1. 在认识实习教学指导中，注意提高学生在观察事物、发现问题、追其原因、剖析本质等调查方式方面的运用能力，调动学生对专业领域的学习兴趣和认知程度，积极培养学生与他人的沟通能力、分析问题能力和解决问题的能力。

2. 在认识实习过程中，要求学生把看到的、听到的、问到的、想到的都记录下来，再结合专业知识的查询与老师的讲授相结合，整理专业认识实习日记。

3. 以书面形式提交专业认识实习报告。

三、实习课程的项目示例

根据教学内容的基本要求及实习地点等多种因素的限制，可以选择适宜的食品加工厂参观，如肉制品厂、焙烤食品厂、软饮料加工厂、啤酒厂、乳制品厂、糖果加工厂等完成实习教学环节。此外，本实习环节也可以通过邀请生产企业技术专家做报告以及观看国内外大型的、先进的食品加工厂的录像等多种方式开展，使学生了解国内外食品行业的现状及发展趋势。具体实习实施内容与要求见表 14-1。

表 14-1　食品科学与工程专业认识实习部分实施内容与要求

实习项目	实习基本要求
食品原料的认识实习	1. 了解水果、蔬菜、水产、禽蛋、粮油等食品原料的种类、产地、品质、运输与贮藏、销售等环节的技术要点 2. 对所发现的现象与问题进行剖析
软饮料、啤酒等饮品的生产认识实习	1. 了解软饮料和啤酒生产的工艺流程、主要生产设备和各主要操作技术环节等 2. 对所发现的现象与问题进行剖析
肉制品的生产认识实习	1. 了解肉制品生产的工艺流程、主要生产设备和各主要操作技术环节等 2. 对所发现的现象与问题进行剖析
乳制品的生产认识实习	1. 了解乳制品生产的工艺流程、主要生产设备和各主要操作技术环节等 2. 对所发现的现象与问题进行剖析
蛋制品的生产认识实习	1. 了解蛋与蛋制品生产的工艺流程、主要生产设备和各主要操作技术环节等 2. 对所发现的现象与问题进行剖析
软胶囊、硬胶囊等功能食品生产设备认识实习	1. 了解软胶囊、硬胶囊、咀嚼片等产品生产的主要设备 2. 对所发现的现象与问题进行剖析
大型超市认识实习	1. 了解肉制品、乳制品、蛋制品、保健食品、饮品、鲜活食品等的包装形式、销售环节等 2. 对所发现的现象与问题进行剖析

四、实习报告的格式与撰写要求

食品科学与工程专业认识实习报告

学生姓名：　　学号：　　专业班级：

实习时间		实习地点	
实习内容		指导教师	
报告正文	专业认识实习的报告包括三部分内容 第一部分：按照开展实习项目的类别，撰写所见、所闻 第二部分：归纳问题、剖析原因 第三部分：撰写收获与感受 附：参考文献目录		
指导教师评语			
成绩评定			

第十五章　食品工艺实践指导

一、实践课程的目的

《食品工艺实践》是食品科学与工程专业的一门技术性和实用性较强的专业技能训练。本课程的实践目标是使学生在学完食品科学与工程专业的专业基础课程和部分专业课程后，通过工艺实践，提高学生的实践设计能力、动手能力与实践技能。

食品工艺实践有其独特性和系统性，重点在于学生的基本实践技能的训练，培养学生严谨的科学态度和良好的实践习惯，熟悉常用食品生产设备的性能，并能熟练掌握规范的操作方法、正确的数据处理方法及实践报告的撰写能力，即通过食品工艺综合实践使学生掌握科学的实践操作技能和现代化的实践手段和方法，以弥补理论教学中实践环节上的不足，提高学生的动手实践能力。

二、实践课程的基本要求

1. 掌握食品生产中试生产线中所有设备的工作原理和操作规程。

2. 掌握示范生产线中的生产关键环节的质量控制要点。

3. 了解连续化生产环节中的一般性故障排除方法，解决突发问题，全面提高生产技能操作水平，巩固专业基础知识与实践环节的相关性。

4. 以书面形式提交实践报告。

三、实践课程的项目示例

食品工艺实践项目内容与要求见表 15-1。

表 15-1　食品工艺实践项目内容与要求

实践项目	仪器与设备	实践基本要求
肉制品加工——中式香肠	由绞肉机、混合机、滚揉机、斩拌机、真空灌肠机、盐水注射机、恒温水浴锅、熏烟炉等设备组装的示范生产线	掌握中式香肠中试生产原理和基本工艺，内容含：盐水注射、滚揉、绞肉、真空斩拌、混合、真空灌肠、蒸煮、烘烤、熏烟等
乳制品加工——凝固型酸奶	100L 酸奶示范生产线	掌握凝固型酸奶中试生产原理和基本工艺，内容含：原料过滤、乳标准化、预热、调配、均质、真空脱气、杀菌、冷却、添加发酵剂、包装、发酵、冷藏后酵
焙烤食品加工——饼干、面包	打蛋机、烤箱酵母、和面机、醒发箱、烤箱、成型机、油炸机等	掌握面包制作的原理和基本工艺方法；分别选用特制粉和标准粉制作面包，并进行质量比较 掌握饼干的调粉原理，熟悉其生产工艺和操作方法。加深面团改良剂对饼干生产之功用的认识
发酵食品加工——全麦啤酒	100L 啤酒示范生产线	掌握全麦啤酒中试生产原理和基本工艺，内容含：大米粉糊化、糖化、保温过滤、煮沸、冷却、发酵、储酒、过滤、杀菌、灌装等
蛋制品加工——洁蛋	洁蛋加工生产线	掌握洁蛋中试生产原理和基本工艺，内容含：整列输送、光照检蛋、洗蛋输送、蛋品清洗、热风干燥、喷油保鲜、蛋品分级等
功能食品加工——动植物功能肽	1000L 功能肽示范生产线	掌握蛋清高 F 值寡肽中试生产原理和基本工艺，内容含：物料调配、酶解、脱色、离心、脱盐、喷雾干燥等

续表

实践项目	仪器与设备	实践基本要求
功能食品加工——功能性咀嚼片	由功能成分提取装置、槽式混合机、制粒机、压片机等设备构成的功能性咀嚼片中试生产线	掌握功能性咀嚼片中试生产原理和基本工艺，内容含：功能成分提取、物料调配、混合、制粒、压片等
功能食品加工——软胶囊	由功能成分提取装置、软胶囊成型机等设备构成的软胶囊中试生产线	掌握软胶囊中试生产原理和基本工艺，内容含：溶胶、制丸、滚丸、晾丸等

四、工艺实践示例——全麦啤酒生产实践

1. 全麦啤酒生产设备

全麦啤酒生产设备主要包括麦芽粉碎机、糖化锅、过滤槽、煮沸锅、回旋沉淀槽、板式换热器、酵母罐、麦汁充氧器、发酵罐、硅藻土过滤机、灌装机、杀菌机、CIP 清洗系统、制冷系统、配电系统、控制系统等。

2. 全麦啤酒生产实践内容

全麦啤酒生产包括 13 个具体单元操作环节，依次是设备与管路 CIP 清洗、麦芽粉碎、糖化、糖化醪过滤、添加酒花煮沸、回旋沉淀、冷却、啤酒酵母接种、麦汁充氧、发酵、硅藻土过滤、灌装、杀菌，其生产工艺流程如图 15-1 所示。

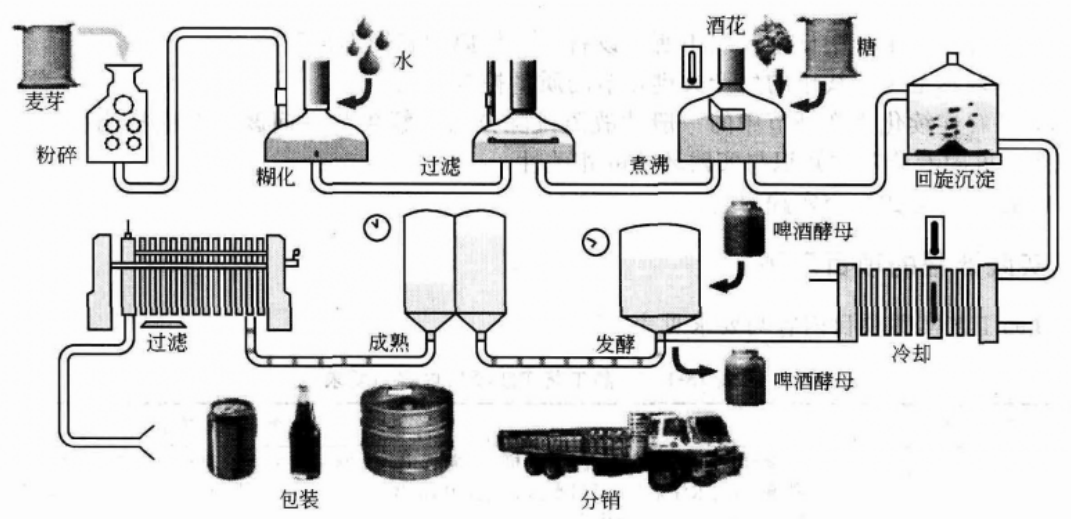


图 15-1　全麦啤酒生产工艺流程

第一环节——设备与管路 CIP 清洗

第一步：碱洗——将碱罐中 2%氢氧化钠溶液加热升温至 85℃，开启移动泵，对所有设备及管道进行碱洗 2 次，保持出口温度不低于 80℃，每次各 25min。麦汁制备设备与管路清洗采用循环清洗方式，即使热碱液泵入到糖化锅兼煮沸锅，流经过滤槽、回旋沉淀槽、板式换热器、啤酒酵母接种罐、麦汁充氧器及其管道；发酵罐清洗采用罐体单独清洗方式。

第二步：水洗——将热水罐中水加热升温至 85℃，开启移动泵，对所有设备及管道进行水洗 2 次，保持出口温度不低于 80℃，每次各 25min。麦汁制备设备与管路清洗采用循环清洗方式，发酵罐清洗采用罐体单独清洗方式。

第三步：酒花煮沸液洗——利用酒花煮沸液清洗麦汁制备设备与管路，可以实现彻底地去除设备与管路中异味，其操作要点为待糖化锅中的水升温沸腾后，将纱布包裹约 50g 左右的酒花投入煮沸 15min，采用循环清洗方式将所有的管道清洗 1 次。

第四步：二氧化氯和柠檬酸混合液洗——将酵母添加罐体、氧气过滤膜以及所有用到的阀门垫浸泡于0.04%二氧化氯和柠檬酸混合液中，浸泡时间为2～3h。0.04%二氧化氯和柠檬酸混合液配置方法为50mL二氧化氯中添加10g柠檬酸定容至2L。

第二环节——麦芽粉碎

称取大麦芽20kg，由麦芽粉碎机的转动手柄控制粉碎操作，麦芽粉碎操作中要注意麦芽进料速度不能太快，否则会缩短粉碎机辊筒的使用寿命，影响粉碎效果。麦芽入料分布均匀，不能集中在一处进行。从麦芽粉碎机排出的物料，不应残留或堵塞在出口处，以免残留的麦粉变酸。麦芽粉碎物的贮存时间不应过长，最好是现用现粉。

第三环节——糖化

首先设定糖化锅温度46℃后，将麦芽粉质量3.5倍的水（即为70L）加入，开启糖化锅加热器和搅拌器；当水温升至46℃时关闭糖化锅加热器，开启糖化锅搅拌器，徐徐将大麦芽粉投入至糖化锅内。

观察糖化锅的料液温度是否控制在46℃，当料液温度低于46℃时，要开启加热器，加热时密切关注糖化锅的料液升温速度；料液温度为45℃时关闭加热器，料液温度为46℃时开始计时，保温10min；10min后，将糖化锅温度控制系统设定为52℃，开启糖化锅加热器，当料液温度升高至51℃时，关闭加热器，料液温度为52℃时开始计时，保温15min；15min后，再将糖化锅温度控制系统设定为65℃，开启糖化锅加热器，当料液温度升高至64℃，关闭加热器，料液温度为65℃开始计时，保温30min；30min后，再次将糖化锅料液升温至72℃，保温25min；25min后，碘试。

将糖化锅温度控制系统设定为78℃，开启糖化锅加热器，当料液温度升高至78℃，关闭加热器。

糖化工序结束，要在最短的时间内将糖化醪中溶出物与不溶性麦糟分离，以得到澄清的麦汁，并获得良好的浸出物收得率，这就进入到了糖化醪过滤环节。

第四环节——糖化醪过滤

糖化醪温度尚未升温至78℃前，将过滤槽底部注入78℃热水，直至溢过滤板为度，目的是要排除过滤板与槽底之间的空气，以及预热过滤槽。

糖化完毕，先检查糖化锅和过滤槽之间的管道阀门，依次开启过滤槽入料阀、管路阀，最后开启糖化醪出料阀，同时启动糖化锅搅拌器和倒料泵，使糖化醪液泵入过滤槽。要观察倒料泵的工作运转情况，及时排除异常工作状况。

待糖化醪液全部泵入过滤槽，用少量热水冲净糖化锅并倒入过滤槽。关闭糖化锅搅拌器、倒料泵、过滤槽入料阀、管路阀。

开启耕刀转3～5转，使糖化醪搅拌均匀。

关闭耕刀静置20～30min，使糖化醪沉降，形成过滤层。如果20min后过滤层界面清晰即可进行过滤。

打开过滤槽出料阀和麦汁排出阀，然后迅速关闭，观察麦汁色泽。过滤初期是浑浊麦汁，通过麦汁阀或麦汁泵抽出浑浊麦汁回至槽内。

此操作重复几次，直到麦汁清亮时，糖化醪过滤工作正式开始。先检查过滤槽和煮沸锅之间的管道阀门，依次开启煮沸锅入料阀、管路阀，最后开启过滤槽出料阀、麦汁排出阀，关闭倒料泵，使麦汁自流到煮沸锅。过滤开始时麦汁排出阀要小开，控制流速，然后根据麦汁的流速逐步开大。

过滤一段时间，麦汁流速逐步减小，待麦糟露出或将露出，开动耕刀，疏松麦糟层。收集滤过“头号麦汁”至煮沸锅一般需45～90min。

完成头号麦汁过滤后，立刻进行洗糟。打开热水罐出口阀和启动倒料泵，倒入78℃热水，

开动耕刀，收集“二滤麦汁”至煮沸锅。开始较浑浊，需回流直至澄清。

在洗糟时，如果麦糟板结，尚需耕糟数次。将洗糟残液流出浓度达到麦汁浓度为 0.7 度，过滤结束。

洗糟完毕，打开排糟孔进行排糟。旋转耕糟机刀或出糟刀，开动耕糟机及打开麦糟排出阀，进行干式排麦糟。

除糟完毕，用水冲净筛板和过滤槽，安放好筛板备用。

第五环节——添加酒花煮沸

麦汁过滤结束，应升温将麦汁煮沸，以钝化酶活力，杀灭微生物，使蛋白质变性和絮凝沉淀，起到稳定麦汁成分的作用，并蒸发掉多余水分。麦汁的煮沸目的包括：蒸发水分，浓缩麦汁，达到规定浓度；钝化酶及杀菌，保证在以后酿造过程中麦汁组分的一致性；蛋白质变性和絮凝，避免由蛋白质造成的啤酒浑浊；酒花有效成分的浸出；排除麦汁中特异的臭味。

将煮沸锅温度控制系统设定为 100℃，开启煮沸锅的加热器、搅拌器，当过滤后泵入煮沸锅内“头号麦汁”和“二滤麦汁”混合液升温至 100℃，开启通风机和煮沸锅排风阀，按照工艺要求添加酒花和煮沸。

添加酒花方法一般是采用传统的 3 次添加法。

第一次：煮沸 5～15min 后，添加 5%～10%，主要消除煮沸物的泡沫。

第二次：煮沸 30～40min 后，添加 55%～60%，主要是萃取 α-酸异化。

第三次：煮沸 80～85min 后，添加 30%～40%，主要萃取酒花油及增加香气。

煮沸时间一般需要 80min 左右，麦汁糖度应为（11±0.3)度。糖度低于此范围，应延长煮沸时间，直至糖度达到此范围。

麦汁糖度测定是将洁净的采样器具用 75%酒精消毒处理，迅速采样，进行冷却处理后，测定麦汁的糖度。

第六环节——回旋沉淀

麦汁经煮沸并达到要求浓度后，要及时分离酒花，除去热凝固物，这一过程通常借助旋涡沉淀槽设备而实现。

启动倒料泵将煮沸后的麦汁倒入回旋沉淀槽。先检查煮沸锅和回旋沉淀槽之间的管道阀门，依次开启回旋沉淀槽入料阀、管路阀，最后开启煮沸锅出料阀，同时启动倒料泵，要观察倒料泵的工作运转情况，及时排除异常工作状况。待热麦汁全部倒入回旋沉淀槽后，静置 30min。

第七环节——冷却

去除热凝固物的麦汁应在较短的时间内把它冷却到要求的温度，并设法除去析出的冷凝固物，此工作要借助于板式换热器完成。

预先启动制冷机和酒精泵制备好冰水，使冰水温度达到 2～4℃。用软管连接好冰水箱和冰水泵。

先开冰水泵，然后缓慢开启麦汁出口阀门，启动倒料泵，调整薄板冷却器麦汁和冷媒的进出口阀，使麦汁符合工艺要求的温度（10℃左右）。

麦汁入罐温度控制在 10℃左右，操作时要密切注意冰水液位管、麦汁冷却温度，及时调整开启或关闭阀门。麦汁冷却完毕先关闭倒料泵，然后关闭冰水泵。每次麦汁冷却结束后，及时用热水清洗板式换热器和管路。定期拆洗板式换热器。

麦汁冷却 5min 左右时打开麦汁充氧球阀进行麦汁充氧和添加酵母。

第八环节——啤酒酵母接种

麦汁在进入发酵罐的同时加入一定量的酵母，用于啤酒发酵。

酵母添加量为 0.5%。

第九环节——麦汁充氧

麦汁冷却后，应给麦汁通入无菌氧气，以供给酵母繁殖所需要的氧气。

通气后的麦汁溶解氧浓度应达到 6～10mg/L。

第十环节——发酵

啤酒发酵将糖转化成酒精以及形成啤酒风味物质的过程，分为主发酵和后发酵两个阶段，包括起泡期、高泡期、落泡期和贮酒成熟期四个工艺阶段。必须要严格按照工艺要求，严格进行发酵温度、降糖速度、发酵时间以及压力的管理和控制。按时测量糖度，并做好记录。

原麦汁入罐温度控制在 10℃左右，一般 24h 后，即升至最高发酵温度 10～12℃，常压发酵 3～4 天。

主发酵基本结束后，糖度降到 4 度左右时，封罐升压升温（0.1～0.12MPa）进行双乙酰还原。2～4 天，降低发酵温度至 5～7℃。一般保持 1～2 天，降温至 0～1℃贮酒温度，在低温贮酒 7～10 天，发酵结束。

按时排沉淀物。当满罐 12h、24h、36h 时分别从锥底排放一次杂质。

排放冷凝固物应缓慢进行，以免麦汁过多排出，加大损失。

按时回收酵母和排废酵母。一般当降温至 5℃，保持一天后回收酵母，从锥底排放。前面杂质较多的酵母应弃去。回收中间的死亡率低的酵母泥。回收酵母用具彻底清洗杀菌，需要洗涤的用 pH 2～3 的磷酸溶液洗涤。

第十一环节——硅藻土过滤

经过后发酵的成熟酒，大部分蛋白质颗粒和酵母已经沉淀，少量悬浮于酒中，即为浊啤酒。此时可以售酒饮用。如果过滤，即为清啤酒。

硅藻土过滤对啤酒的分离要求是：产量大，质量高（透明度高），损失小，劳动条件好，CO_2 损失小，不易污染，不影响风味，啤酒不吸收氧。实际上不论何种方法要达到完美的效果都不是很容易。

第十二环节——罐装

过滤完毕的啤酒，在清酒罐低温存放准备包装，通常同一批酒应在 24h 内罐装完毕，包装容器可分为瓶装、罐装和桶装。瓶装产品比重最大；桶装较古老，目前世界很流行，主要是鲜啤酒；罐装虽然容器成本高，由于节省包装容器的运费，省去贴标签、降低灭菌蒸汽量，便于旅游携带，所以也广为使用。

第十三环节——杀菌、保藏

灭菌用水应尽可能用低硬度水，以防钙镁盐沉淀喷嘴。

为防止破瓶中的酒液降低杀菌水的 pH，以致腐蚀瓶盖，可在水中加适量碱液，降低酸度，使 pH 保持 8.0。灭菌后的啤酒接着贴标、验酒、装箱。

一般生啤酒在常温条件下可贮存 5～7 天而不变质；瓶装啤酒在常温下的保质期为 60～90 天；听装啤酒的保质期为 12～18 个月。

啤酒的贮藏要保持一定的贮藏温度，生啤酒保存温度控制在 10℃以下，其他瓶装、听装啤酒控制在 16℃左右。

3. 全麦啤酒生产实践实施方案

① 组织学生观看《全麦啤酒生产技术》电视教材。

② 熟悉全麦啤酒生产线的所有阀门、管路与其走向；掌握示范生产线控制面板上的每一个按钮控制的阀门与电泵的使用、操作要点及注意事项。

发酵控制面板 1 上控制包括按钮：糊化锅加热、糖化锅加热、倒醪泵、过滤泵、凉酒泵、酒糟耕刀、发酵罐控制开关。

发酵控制面板 2 上控制包括按钮：酒精泵、冰水泵、空气压缩机、热水加热、碱水加

热等。

③ 掌握设备与管路 CIP 清洗要求，并以水代料进行全麦啤酒生产的现场操作训练，强化所有阀门控制要点。特别训练糖化阶段、过滤阶段、煮沸阶段三个重要环节的操作步骤及其质量控制要点。

④ 掌握全麦啤酒的麦汁制备技术要点，要求学生对各个操作环节具备独立操作的能力。

⑤ 掌握全麦啤酒发酵技术要点，尤其是发酵温度管理、发酵程度控制与操作技术。

五、实践报告的格式与撰写要求

食品工艺实践报告

学生姓名		学号	
专业班级		指导教师	
实践项目			
实践报告正文	食品工艺实践报告包括三部分内容 第一部分：实践项目的工艺流程与其操作要点 第二部分：产品生产实践中的质量控制要点与其影响因素分析 第三部分：产品质量检验，结果分析与讨论 附：参考文献目录		
指导教师评语			
成绩评定			

第十六章　食品工艺设计指导

一、课程设计的目的

《食品工艺设计》是食品科学与工程专业本科生的专业实践环节之一。本课程是在讲授食品营养学、食品工艺学、食品质量控制、优化实验设计、食品感官评价、功能食品、食品贮藏保鲜、饮料加工工艺等专业课程的基础上，将继续培养学生进行综合运用现代信息技术获取食品科学与工程领域中的技术信息能力、新产品或新工艺的设计能力、食品工程化设计能力。因此，本课程不仅可以加深学生对从原料到成品的完整加工概念、不同加工手段或工艺对食品质量和经济技术指标的影响情况的理解，而且还能培养学生利用已学的基本原理来解决实际问题的能力，使学生掌握保健食品工艺的设计方法，对开发新产品的一般步骤和问题等方面有一定的了解。本课程为后续课程毕业论文（设计）环节奠定基础，也能为学生就业从事食品或相关产品的科学研究、技术开发以及工程设计等方面的工作提供一定的帮助。

二、课程设计的基本要求

1. 一人一题

每人独立完成有关设计内容的选题与试验方案设计论证、实验方案实施、生产工艺流程设计等所有设计工作。

2. 选题论证

每人独立进行 20 篇以上文献查阅、汇总、分析，并撰写出选题报告（主要阐述设计选题的背景与意义，字数 3000 字以上）。

3. 工艺设计

包括技术参数的优化设计、工艺流程设计、物料衡算、设计说明书撰写等内容。

4. 撰写工艺设计报告

要求文字字数在 1 万字以上，并附 3 张设计图纸（手绘、CAD 绘制均可）；是否提供设计说明书要根据选题要求另议。

5. 产品展示与交流

提供选题汇报 PPT、课程答辩 PPT；提供研制产品，在班内、组内进行产品展示、品尝与交流，以提高学生综合分析问题能力以及口语表达能力等。

三、课程设计题目示例

1. 设计要求

独立设计、独立完成。

2. 确定设计产品的消费人群

根据自己选题，明确设计产品消费群体。

具体要求见表 16-1。

表 16-1　设计题目与其设计要求

设计题目	设计目的	已知设计条件
××营养保健酸奶生产工艺设计	利用动植物功能因子(或具有功能特性果蔬基材)、牛乳、白砂糖等主要原料，开发一种具有保健功能的酸奶产品，并设计其生产工艺流程	1. 搅拌型或凝固型酸奶生产基本工艺过程 2. 动植物功能因子水浸提的基本工艺流程 3. 100L 搅拌型或凝固型酸奶示范生产线与主要生产设备；生产厂区、生产车间等平面图
××花色冰激凌生产工艺设计	利用具有功能特性果蔬基材、牛乳等主要原料，开发一种具有保健功能的花色冰激凌产品，并设计其生产工艺流程	1. 冰激凌生产基本工艺过程 2. 具有功能特性果蔬预处理或功能因子水浸提的基本工艺流程 3. 冰激凌膨化机等设备与构造示意图
××保健啤酒生产工艺设计	利用动植物功能因子(或具有功能特性果蔬基材)、麦芽、酒花等主要原料，开发一种具有保健功能的啤酒产品，并设计其生产工艺流程	1. 全麦啤酒生产基本工艺过程 2. 动植物功能因子水浸提的基本工艺流程；或者具有功能特性果蔬预处理基本工艺 3. 100L 啤酒示范生产线；生产厂区、生产车间等平面图；糊化锅、液化锅、煮沸锅、过滤槽、沉淀槽、板式换热器、酵母接种罐、发酵罐等主要生产设备构造图
××保健饮料生产工艺设计	利用动植物功能因子(或具有功能特性果蔬基材)等主要原料，开发一种具有保健功能的饮料产品，并设计其生产工艺流程	1. 发酵型果蔬饮料或者果汁饮料等多种产品形式的基本工艺过程 2. 动植物功能因子水浸提的基本工艺流程；或者具有功能特性果蔬预处理基本工艺 3. 气液混合机、巴氏灭菌机、调配缸、胶体磨、高压均质机、超高温瞬时杀菌机、饮料灌装机等主要设备与其构造图
××风味肠工艺设计	利用动植物功能因子(或具有功能特性果蔬基材)等主要原料，开发一种具有保健功能风味肠产品，并设计其生产工艺流程	1. 香肠生产的基本工艺过程 2. 动植物功能因子水浸提的基本工艺流程；或者具有功能特性果蔬预处理基本工艺 3. 绞肉机、混合机、滚揉机、斩拌机、真空灌肠机、盐水注射机、恒温水浴锅、全自动高压杀菌釜、真空包装机、油炸机、熏烟炉等设备与其构造图
××强化面包生产工艺设计	利用动植物功能因子(或具有功能特性果蔬基材)、面粉、白砂糖等主要原料，开发一种具有保健功能面包产品，并设计其生产工艺流程	1. 面包生产的基本工艺过程 2. 动植物功能因子水浸提的基本工艺流程；或者具有功能特性果蔬预处理基本工艺 3. 打蛋机、烤箱酵母、和面机、醒发箱、烤箱、成型机、油炸机等主要设备与其构造图
××特色饼干生产工艺设计	利用动植物功能因子(或具有功能特性果蔬基材)等主要原料，开发一种具有保健功能的饼干产品，并设计其生产工艺流程	1. 韧性饼干、酥性饼干等多种产品形式的基本工艺过程 2. 动植物功能因子水浸提的基本工艺流程；或者具有功能特性果蔬预处理基本工艺 3. 打蛋机、烤箱酵母、和面机等主要设备与其构造图
××酒心巧克力生产工艺设计	利用动植物功能因子(或具有功能特性果蔬基材)等主要原料，开发一种具有保健功能的酒心巧克力产品，并设计其生产工艺流程	1. 酒心巧克力生产的基本工艺过程 2. 动植物功能因子水浸提的基本工艺流程；或者具有功能特性果蔬预处理基本工艺 3. 恒温箱、结晶模具等主要设备与其构造图
××咀嚼片(含片)生产工艺设计	利用动植物功能因子(或具有功能特性果蔬基材)等主要原料，开发一种具有保健功能的咀嚼片(含片)产品，并设计其生产工艺流程	1. 咀嚼片(含片)生产的基本工艺过程 2. 动植物功能因子水浸提的基本工艺流程；或者具有功能特性果蔬预处理基本工艺 3. 烘箱、压片机等主要设备与其构造图
××软胶囊生产工艺设计	利用动植物功能因子(或具有功能特性果蔬基材)等主要原料，开发一种具有保健功能的软胶囊产品，并设计其生产工艺流程	1. 软胶囊生产的基本工艺过程 2. 动植物功能因子水浸提的基本工艺流程；或者具有功能特性果蔬预处理基本工艺 3. 软胶囊包装机等主要设备与其构造图

四、课程设计报告格式与其撰写要求

食品工艺设计报告

学生姓名		学号	
专业班级		指导教师	
设计题目			
设计报告正文	本课程的设计报告包括五部分 第一部分：撰写选题报告 1. 选题背景 2. 研究意义 3. 研究现状分析 4. 设计内容与其创新点 第二部分：设计方案 5. 材料与仪器 6. 实验方法 (1)设计生产技术路线 (2)标的物的分析与质量检测方法 (3)标的物的单因素实验方案(绘制单因素实验方案表) (4)标的物的正交设计/均匀设计/响应面设计的实验方案(绘制因素水平表、优化实验方案表) (5)数据分析方法 第三部分：设计实施与结果分析 7. 结果与分析 (1)单因素实验结果与分析(绘制统计图) (2)正交设计/均匀设计/响应面设计的结果与分析(包含：绘制统计表、极差分析、方差分析) (3)设计产品的质量分析 (4)确定所设计产品的生产技术路线或产品生产配方 第四部分：物料衡算与设备选型 8. 物料衡算 9. 设备选型 (1)设备选型的基本原则 (2)设备的规格、型号等具体参数汇总表 (3)设备的具体参数 10. 产品生产工艺流程图的设计 第五部分：绘制图纸、撰写设计说明书 要求：提供图纸3张，包括生产工艺流程平面布置图1张(要求标注物料、水路、电路、气路)，生产厂区与生产车间平面图1张，主要生产设备构造图1张 附：参考文献目录		
指导教师评语			
成绩评定			

参 考 文 献

[1] 陈斌主编. 食品加工机械与设备. 北京：机械工业出版社，2003.
[2] 肖旭霖主编. 食品机械与设备. 北京：科学出版社，2006.
[3] 梁世中主编. 生物工程设备. 北京：中国轻工业出版社，2005.
[4] 高福成主编. 现代食品工程高新技术. 北京：中国轻工业出版社，2002.
[5] 王镜岩等主编. 生物化学. 第3版. 北京：高等教育出版社，2007.
[6] 阎隆飞，李明启. 基础生物化学. 北京：中国农业出版社，1985.
[7] 吴显荣. 基础生物化学. 第2版. 北京：中国农业出版社，2000.
[8] 张洪渊主编. 生物化学教程. 成都：四川大学出版社，2002.
[9] 吴谋成主编. 食品分析与感官评定. 北京：中国农业出版社，2002.
[10] 无锡轻工大学，天津轻工业学院合编. 食品分析. 北京：中国轻工业出版社，2005.
[11] 章银良. 食品检验教程. 北京：化学工业出版社，2006.
[12] 汪东风主编. 食品质量与安全实验技术. 北京：中国轻工业出版社，2004.
[13] 吴广臣主编. 食品质量检验. 北京：中国计量出版社，2006.
[14] 杨同舟. 食品工程原理. 北京：中国农业出版社，2001.
[15] 高福成，冯骉. 食品工程原理. 北京：中国轻工业出版社，2001.
[16] 姚玉英. 化工原理. 天津：天津大学出版社，1996.
[17] 夏文水. 食品工艺学. 北京：中国轻工业出版社，2007.
[18] 蔺毅峰. 食品工艺实验与检验技术. 北京：中国轻工业出版社，2005.
[19] 张和平，张佳程. 乳品工艺学. 北京：中国轻工业出版社，2007.
[20] 柴诚敬，刘国淮，李阿娜编. 化工原理课程设计. 天津：天津科学技术出版社，2002.